UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1966-1967 N° 844

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'HYPERLIPÉMIE POSTPRANDIALE

---

## THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 11 Janvier 1967

devant la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention : PHARMACIE)

par

JEAN-MARIE UHLRICH

Pharmacien

---

Examinateurs de la Thèse — Juges

MM. Pierre MÉTAIS, Professeur, Président
Paul CORDIER, Professeur
Julien WARTER, Professeur
Guy DIRHEIMER, Maître de conférences

1967

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1966-1967 N° 844

# CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'HYPERLIPÉMIE POSTPRANDIALE

---

# THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 11 Janvier 1967

devant la

FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention : PHARMACIE)

par

JEAN-MARIE UHLRICH

Pharmacien

---

Examinateurs de la Thèse — Juges

MM. **Pierre MÉTAIS**, Professeur, Président
**Paul CORDIER**, Professeur
**Julien WARTER**, Professeur
**Guy DIRHEIMER**, Maître de conférences

1967

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

FACULTE DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITE DE STRASBOURG

---

Doyen : M. M.HASSELMANN.

Doyen honoraire : M. P.DUQUÉNOIS.

Assesseur : M. J.SCHREIBER.

Professeurs :

| | | |
|---|---|---|
| MM. | R.SARTORY | Bactériologie et Cryptogamie |
| | P.CORDIER | Pharmacie chimique |
| | P.DUQUÉNOIS | Matière médicale et Hydrologie |
| | P.JAEGER | Botanique |
| | G.GAZET DU CHATELIER | Pharmacie galénique et Pharmacodynamie |
| | M.HASSELMANN | Chimie analytique |
| | J.SCHREIBER | Chimie organique |
| | P.METAIS | Chimie biologique |
| | G.LAUSTRIAT | Physique et Mathématiques |
| | N. | Législation et Déontologie pharmaceut. |

Professeurs honoraires : MM. Ch.IAPP - J.P.EBEL.

Professeurs sans chaire :

| | | |
|---|---|---|
| MM. | A.LEDOUX | Zoologie |
| | J.MALGRAS | Hygiène |

Maîtres de conférences :

| | | |
|---|---|---|
| MM. | Ch.F.IAPP | Sciences physico-chimiques |
| | G.DIRHEIMER | Sciences appliquées |
| | L.JUNG | Physique |
| | Cl.MATHIS | Pharmacie galénique |
| | A.STAHL | Biochimie pharmaceutique et technique |

Maître de conférences honoraire : M. E.COLLARD.

Chefs de travaux pratiques :

| | | |
|---|---|---|
| Mme. | M.KRISTENSEN-REH | Chimie |
| Mme. | N.OURISSON-HEILIGENSTEIN | Physiologie végétale |
| M. | Ch.ROMOND | Bactériologie |
| M. | P.LAUGEL | Chimie |
| Mme. | D.WENCKER-SCHAELDERLE | Physique et Mathématiques |
| M. | C.G.WERMUTH | Chimie |
| Mlle | C.ASSENMACHER (délégué dans les fonctions) | Chimie |
| M. | H.LAMI ( - - - - ) | Physique |
| Mlle | M.MEYLAENDER ( - - - - ) | Essais de médicaments végétaux |
| M. | L.MICHEL ( - - - - ) | Parasitologie et Histologie |
| MM. | J.P.SCHREIBER ( - - - - ) | Physique |
| M. | G.STEINECKER ( - - - - ) | Pharmacie galénique et Zoologie |
| M. | J.P.HASSELMANN ( - - - - ) | Chimie biologique |

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'HYPERLIPEMIE POSTPRANDIALE

---

A MA MERE.

# I N T R O D U C T I O N

L'ingestion et la transformation dans les tissus vivants de différents matériaux permettent à l'organisme de satisfaire ses besoins énergétiques et chimiques. Parmi ces matériaux, certains tels l'eau, les sels minéraux, les sucres, les amino-acides, peuvent, grâce à leur solubilité, traverser la paroi de l'intestin grêle, filtre sélectif isolant le milieu intérieur, sans subir de changements. D'autres ne passent pas et sont excrétés dans les selles. Des molécules importantes enfin, telles les polysaccharides, les graisses, les protéines, doivent au préalable selon DESNUELLE, "perdre leur personnalité".

D'une manière générale, les nutriments doivent donc être digérés, résorbés, parfois transformés puis transportés de l'intérieur vers les différents organes où ils seront finalement utilisés.

C'est à l'étude des graisses alimentaires naturelles, de leur absorption, des conditions de cette absorption que nous avons consacré ce travail. Pour ce faire, nous avons utilisé un test d'exploration fonctionnelle, l'épreuve d'hyperlipémie provoquée. Un des chapitres de notre travail sera consacré à l'étude du mode d'absorption des graisses, absorption dont l'intérêt physiologique est considérable puisqu'elle conditionne, pour une bonne part, l'apport énergétique dû aux lipides alimentaires, dont nous ne devons pas, par ailleurs, oublier le rôle de vecteurs de vitamines liposolubles.

Au cours de l'épreuve d'hyperlipémie provoquée, l'ingestion de différentes graisses et leur métabolisme peuvent être suivis dans l'organisme par divers procédés biochimiques : dosage des graisses neutres, du cholestérol, des phosphatides du sérum, tous ces constituants formant la lipémie. L'absorption d'une quantité importante de graisse entraîne, en outre, l'apparition dans le sang de fines particules, les chylomicrons. Nous nous sommes particulièrement attachés à l'étude de cette fraction lipidique et à ses variations en fonction des différentes graisses ingérées. On note, en effet, entre les divers corps gras, des différences nettes qui retentissent sur leur métabolisme et expliquent les variations rencontrées dans leur utilisation physiologique. Ces différences tiennent à leur constitution physico-chimique, mais surtout à la nature, aux proportions des acides gras constituants des glycérides. La longueur de la chaîne carbonée, la configuration stéréochimique des acides gras, créent entre eux des différences importantes au point de vue utilisation. Ce sont ces faits que nous avons cherché à mettre en évidence dans ce travail.

Les techniques utilisées nous ont permis d'observer les destinées d'un corps gras ingéré chez les sujets sains, normaux, maintenus en parfaite condition physiologique. Les expériences réalisées nous ont permis également de préciser les conditions dans lesquelles doivent être exécutées les épreuves d'hyperlipémie dont les variations dans les différents états pathologiques nous ont particulièrement intéressés.Nous avons décrit les résultats de ces épreuves dans la deuxième partie de notre travail.

- - -

Avant de présenter notre travail, qu'il nous soit permis de remercier Monsieur le Professeur WARTER qui, en nous accueillant dans son laboratoire, nous a permis de travailler dans les meilleures conditions. Que cet ouvrage, dont nous prions d'excuser les imperfections, soit le témoignage de notre grande admiration et de notre respectueuse reconnaissance.

Nous remercions également le Docteur LANTER et le personnel de l'Hôpital Psychiatrique de Rouffach, dont la compréhension et le désintéressement nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous avons trouvé en Monsieur le Professeur METAIS le guide de tous les instants qui nous a aidé à surmonter les difficultés et les impondérables inhérents à tout travail de recherche et qui nous a fait profiter de son expérience de biologiste.

Que Messieurs les Professeurs CORDIER et DIRHEIMER qui ont accepté de faire partie de notre jury, voient dans cet ouvrage le témoignage de notre reconnaissance pour l'honneur qu'ils nous ont fait, et l'enseignement qu'ils nous ont prodigué au cours de nos années d'étude.

Enfin, nous n'aurions garde d'oublier nos amis de la Clinique Médicale A et en particulier ceux du laboratoire où s'est élaboré ce travail, pour la sympathique cordialité qu'ils nous ont manifestée.

# PREMIERE PARTIE

## GENERALITES et TECHNIQUES

- - -

# P R E M I E R E  P A R T I E

## Chapitre premier

## ABSORPTION INTESTINALE DES GRAISSES

De nombreux facteurs conditionnent l'absorption intestinale des graisses. Parmi ceux-ci citons :

- la nature des graisses fournies.
- le rythme de l'évacuation gastrique.
- la quantité et la qualité des sécrétions biliaire et pancréatique .
- les conditions et les facteurs qui régissent la digestion d'une graisse : état de la muqueuse intestinale.
- la vitesse d'absorption de la graisse ingérée.

Citons encore le transport des graisses, soit par la voie portale jusqu'au foie, soit par les chylifères jusqu'à la grande circulation par l'intermédiaire du canal thoracique; enfin l'utilisation de la graisse ingérée, fonction de son apport et de sa fixation dans les dépôts sous contrôle neuro-hormonal (141).

De nombreux aspects du problème restent cependant encore à élucider. Nos connaissances actuelles sur l'absorption intestinale des graisses peuvent être classées, selon CLEMENT (84), en quatre chapitres principaux :

- les phénomènes intraluminaires.
- la phase cellulaire.
- les voies de transport des graisses résorbées.
- les dépôts.

### I - LES PHASES PRELIMINAIRES ET LES PHENOMENES INTRALUMINAIRES.

a) L'évacuation gastrique :

Elle conditionne partiellement le métabolisme des lipides. Sous la dépendance des variations individuelles (349), elle est fonction de la richesse en lipides d'un repas d'épreuve (4, 101).

b) Les phénomènes intestinaux :

L'arrivée des corps gras dans le duodénum provoque la sécrétion de deux hormones :

- l'une stimule l'évacuation de la bile,
- l'autre, la sécrétion externe du pancréas (101), par l'intermédiaire de la sécrétine.

1. Rôle de la bile.

Quoique dépourvue d'enzymes lipolytiques, la bile, par ses propriétés mouillantes et émulsifiantes (47), joue un rôle important dans l'absorption des graisses. Intervenant dans leur digestion pour activer la lipase pancréatique, en milieu alcalin (179, 284) et par là même, l'hydrolyse des triglycérides (48, 87-88, 173, 268, 301-302, 346), elle serait pour certains indispensable à la résorption du cholestérol (183, 284, 308, 316, 421), pour d'autres uniquement à son métabolisme (165, 259-260).

Le rôle essentiel de la bile et des sels biliaires a été plus ou moins reconnu par de nombreux auteurs (49, 92, 300, 308). Les sels biliaires jouent un rôle capital dans la théorie de FRAZER, formant un système émulsif (126-127) avec les acides gras à longue chaîne et les monoglycérides (136) et réalisant ainsi des particules de graisses extrêmement fines qui pénètrent dans les cellules de la muqueuse intestinale par de fins canaux et sont retrouvées dans la lymphe.

Le mécanisme d'action de la bile a suscité de nombreuses controverses (258, 333, 335, 345). L'importance de son action serait fonction de la nature des corps gras (5), de la forme des acides gras (257) ainsi que du point de fusion des graisses.

2. Action des lipases pancréatique et intestinale.

L'absence de lipase présente pour les différents auteurs qui ont étudié son action une importance plus ou moins grande. Pour la plupart cependant, elle entraînerait une diminution de la résorption des graisses (338, 343, 346).

A la fin du siècle dernier, on pensait généralement que les graisses étaient émulsionnées dans l'intestin et que cette émulsion passait plus ou moins rapidement dans les lymphatiques. Le suc pancréatique devait donc avoir pour effet d'hydrolyser une partie des glycérides, en libérant une faible quantité d'acides gras qui, absorbés sous forme de savons, stabilisaient l'émulsion, en corrélation avec la bile. Cette théorie, basée sur l'augmentation des lipides neutres de la lymphe (238) après un repas gras, était confirmée par de nombreux auteurs dont ARGYRIS et FRANCK (7).

Les graisses neutres finement émulsionnées, peuvent être absorbées telles quelles, sans altération chimique (110, 230).

De nombreuses autres théories furent ensuite proposées, dont celle de l'hydrolyse totale des glycérides en glycérol et acides gras de PFLÜGER (258) et de VERZAR, les deux ne différant que par la destinée des acides gras libérés au cours de l'hydrolyse, de l'absorption à la fois sous forme de graisses non hydrolysées et d'acides gras à l'état libre (125, 126, 333).

L'analyse des produits de l'hydrolyse des glycérides par la lipase (12), les techniques nouvelles - chromatographie sur acide silicique, utilisation de composés marqués, fistulisation lymphatique - ont permis de préciser le degré de la lipolyse. L'action in vitro d'extraits pancréatiques sur la trioléine (100, 102-105) ou l'étude de l'hydrolyse d'huiles estérifiées par des acides gras marqués (50-54), ainsi que les expériences in vivo sur le contenu intestinal du rat (52, 100, 228) ou de l'homme (2, 161, 188) ont permis de conclure à une hydrolyse partielle des glycérides, hydrolyse se faisant par étapes, les chaînes grasses étant arrachées avec une difficulté croissante. Le taux des acides gras libérés est essentiellement variable, indépendant de la quantité de corps gras fournie. Il semble cependant qu'il y ait un facteur limite à la lipolyse des triglycérides, facteur fourni par les monoglycérides eux-mêmes (273).

Cette hydrolyse par étapes fait intervenir la notion de double spécificité de la lipase :

- une spécificité de position (227, 287) : il y a attaque préférentielle des chaînes grasses en position externe, les liaisons 2 au centre de la molécule étant plus résistantes et ne subissant que rarement une dégradation ultérieure irréversible. Il se produit également des échanges partiels entre les acides gras des glycérides et ceux libérés au cours de l'hydrolyse (52, 55) et seules les chaînes liées aux positions externes 1 et 3 participent à ces échanges. Ceux-ci, débutant dans la lumière de l'intestin grêle, sont complètés par une transformation complète lors du passage des glycérides à travers les cellules de la muqueuse intestinale. Les glycérides à longue chaîne seront donc, en grande majorité, absorbés sous forme de glycérides (139, 273). Il se produit en même temps un équilibre entre les acides gras libérés et ceux des triglycérides. Enfin des migrations de position, des transacylations sont également possibles au cours de la lipolyse (2, 51, 53).

- une spécificité chimique, aboutissant à la libération préférentielle des acides gras les plus saturés (85). Elle a été confirmée par de nombreux travaux (227, 287-288).

Des réactions inverses de réestérification peuvent se produire simultanément au cours de l'hydrolyse (12, 52, 55); de même l'incorporation des acides gras libérés au cours de la lipolyse pancréatique semble due non seulement à une transestérification, mais également à une resynthèse des liaisons esters. Aucune synthèse de novo, à partir du glycérol libéré au cours de l'hydrolyse, n'a été démontrée.

c) Composition du contenu intestinal après un repas gras

L'analyse des lipides du contenu intestinal met en évidence de nombreux composés parmi lesquels des triglycérides (52, 55, 102, 188, 228), des glycérides partiels dont les monoglycérides

en position 2 (228), des acides gras dont le taux est variable (travaux de BORGSTRÖM, 152, 128, 212), des savons dont l'existence n'a été reconnue que par CLEMENT (87), enfin des constituants de la bile, des lécithines, du cholestérol libre et estérifié qui jouent tous le rôle d'émulsionnants.

Tous ces composés, au cours de la phase cellulaire, vont subir des transformations, puis être transportés jusqu'aux différents tissus où ils seront utilisés.

## II - LA PHASE CELLULAIRE.

De nombreuses transformations s'effectuent à l'intérieur des cellules de la muqueuse intestinale (54). Au cours de l'absorption, on note une augmentation considérable des graisses neutres et des acides gras dans les parois de la muqueuse intestinale. Les phospholipides, eux, restent relativement constants (17,304). Parallèlement, il y a augmentation des graisses neutres de la lymphe et, à un degré moindre, des phospholipides (46, 66, 314).

### Les triglycérides.

Leur synthèse à partir des glycérides partiels et des acides gras, synthèse débutant dans la lumière intestinale, se poursuit dans les cellules de la muqueuse. Une hydrolyse complète, dans la lumière intestinale ou dans la muqueuse (324) semble donc finalement précéder la resynthèse des triglycérides dans la muqueuse, les acides gras libérés se retrouvant dans les chylifères sous forme de triglycérides (32-33, 48-49). Il semble également, au cours du passage muqueuse intestinale-lymphe, y avoir une redistribution des acides gras dans la molécule de glycéride, échanges dûs à un mécanisme différent de celui de la lipase pancréatique (travaux de BORGSTRÖM, 1952). Le glycérol libéré au cours des hydrolyses, n'intervient que peu dans ces diverses synthèses (122); le glucose sanguin semble être le précurseur du glycérol des glycérides nouvellement formés (262), cette synthèse faisant intervenir de nombreux facteurs tels que l'ATP, le CoA, les ions Mg (95, 299) et les enzymes nucléotidiques.

### Le cholestérol

On admet aujourd'hui que le cholestérol alimentaire subit des modifications du fait de la présence d'un enzyme pancréatique, la cholestérolestérase. Les esters ainsi formés sont émulsionnés en présence de bile et de sels biliaires et passent ainsi la muqueuse intestinale. Cette cholestérolestérase peut agir de façon couplée avec la lécithase (199), estérifiant le cholestérol avec les acides gras libérés des molécules de lécithine et réversible - hydrolyse et synthèse - Les travaux de SWELL (317) et CLEMENT (86), ont montré que l'enzyme présentait une affinité pour une certaine catégorie d'acides gras et que l'on pouvait

ranger ces derniers en fonction de leur capacité à être estérifié. Les acides gras estérifiant le cholestérol sont ceux les plus désaturés (86, 199, 317). Le lieu de cette estérification a, toutefois, créé de nombreuses controverses (86, 119, 120, 199, 294-295, 317), elle serait possible en dehors de toutes traces de graisses dans l'organisme.

Le cholestérol résorbé parvient directement au foie par la veine porte, en majeure partie sous forme libre. Le transport se fait par les chylifères tant sous forme libre qu'estérifiée (66, 237).

Les phospholipides.

Si l'utilisation d'éléments marqués (13, 34-35, 36, 274), les expériences aux phospholipides radioactifs (9, 13), les techniques de fistulisation lymphatique (34-35, 36, 274) ont permis d'établir l'existence d'une hydrolyse intestinale, il n'y a aucun doute quant aux transformations touchant les phospholipides et survenant dans les cellules intestinales, quant à la synthèse des phospholipides et à leur augmentation dans la lymphe pendant l'absorption des graisses (46, 50, 66, 314). Cette synthèse, dont le mécanisme a été expliqué par VERZAR, pourrait avoir lieu au cours du stade intraluminaire (122).

Diverses expériences (11, 18, 304, 306) montrent une incorporation, à un fort pourcentage, d'acides gras dans les phospholipides de la muqueuse intestinale; les acides gras saturés, de longueur de chaîne différente, sont incorporés d'une manière qui serait sélective, dans les phospholipides de l'intestin grêle, du foie et de la lymphe (48, 50).

Le rôle des phospholipides a été très discuté. Selon VERZAR, ils constituent une étape dans la synthèse des graisses neutres, dont ils seraient des produits intermédiaires (18, 102, 306). Ils entrent également dans la constitution de l'enveloppe des chylomicrons (126). Les phospholipides ne semblent pas, cependant, être des intermédiaires nécessaires pour tous les acides gras absorbés, certains étant incorporés de préférence à d'autres, incorporation sous la dépendance de la structure de l'acide, pour la resynthèse des triglycérides à partir d'acides gras, mais qui reste néanmoins faible.

## III - LES VOIES DE TRANSPORT.

Au cours de l'absorption des triglycérides, l'augmentation marquée des graisses neutres et, à un degré moindre, des phospholipides (46, 66, 314), la composition en acides gras des lipides voisine de celle des graisses ingérées, montrent l'importance de la lymphe comme voie de transport, ainsi que l'avaient fait MUNK et ROSENSTEIN (239) en 1891.

Après que FRAZER, en 1943, eut énoncé la "partition théorie" (126), selon laquelle les graisses neutres passeraient dans

la lymphe et les acides gras, à l'état libre, dans le sang portal, théorie reprise par TIDWELL (323), AULD et NEEDHAM (14), SINGER, SPORN et NECHELES (307), de nombreux travaux, tant chez le chien (46, 139), le rat (38, 49, 271-272), que chez l'homme ont permis de montrer que les acides gras à longue chaîne, saturés ou non, administrés sous forme libre ou estérifiée, sont absorbés essentiellement via les voies lymphatiques, sous forme de triglycérides et incorporés à un faible degré dans les phospholipides. Ces mêmes expériences ont mis en évidence la relation entre les acides gras à longue chaîne, saturés ou non, des chylifères et les graisses ingérées. Quant aux acides à courte ou moyenne chaîne, leur transport est réalisé surtout par l'intermédiaire de la veine porte (174). Les travaux de RAPER (267), de BLOOM (39) ont montré qu'il y avait partage entre les voies lymphatique et portale, la proportion d'acides gras empruntant cette dernière voie étant d'autant plus forte que la chaîne est plus courte.

## IV - LES DEPOTS.

Les graisses neutres représentent donc la forme sous laquelle la plus grande partie des graisses ingérées est transportée dans le sang, puis dans les organes où il y a une rapide métabolisation, enfin dans les dépôts où sont stockées les diverses fractions lipidiques.

La rate (201, 242, 256), les muscles (167, 242, 298), le tissu adipeux sous cutané, le tissu nerveux, les poumons (219) constituent des dépôts de graisses plus ou moins importants, mais le taux de fixation des graisses dans ces organes donne encore lieu à de nombreuses controverses (144, 167).

Dans ce domaine, le foie, par contre, joue un rôle capital et toute une série de travaux ont établi son rôle dans la régulation de l'hyperlipémie alimentaire (172, 266, 321). Intervenant dans le métabolisme final des graisses, la $\beta$ oxydation (177), il exerce un rôle régulateur dans le métabolisme des graisses neutres (80, 181, 256), du cholestérol (10, 145) et dans la synthèse des phospholipides (10) dont le taux global et la synthèse sont modifiés par l'apport alimentaire (305).

Nous terminerons ce chapitre de l'absorption intestinale des graisses en signalant le rôle joué par les glandes endocrines, dans leur absorption (332, 334), leur métabolisme ou leur transport au foie et aux tissus (17, 22, 283), rôle que nous avons pu mettre en évidence au cours de diverses épreuves d'hyperlipémie provoquée réalisées dans le domaine pathologique notamment.

## Chapitre II

## L'EPREUVE D'HYPERLIPEMIE PROVOQUEE

Le dosage de la lipémie totale et ses variations après un repas gras - lipémie alimentaire - ou après absorption d'une quantité donnée de graisses déterminées - hyperlipémie provoquée - peuvent être suivies dans le sang par différentes méthodes d'analyses.

Les graisses alimentaires formées essentiellement de triglycérides, passent en effet dans le sang sous forme de chylomicrons avant d'être incorporées dans les lipoprotéines. Le dosage de ces chylomicrons a été à l'origine du test d'hyperlipémie provoquée, test permettant l'étude du cycle digestif des corps gras, de la digestibilité et de l'absorption des graisses alimentaires, la vitesse d'absorption étant supposée en rapport avec la constitution triglycéridique des corps gras. Il permet en outre la mise en évidence de l'intolérance aux graisses des malades et constitue un moyen d'appréciation très sensible des fonctions digestives du pancréas (229).

Comme tous les tests de surcharge, le test d'hyperlipémie provoquée fournit souvent des résultats difficiles à interpréter. Trop de facteurs, en effet, interviennent dans l'établissement des courbes obtenues, facteurs dont les principaux tiennent

- aux sujets eux-mêmes, leur âge, leur sexe, leur poids et adiposité, leur activité au cours du test, les conditions dans lesquelles ils se trouvent avant et pendant l'épreuve (jeûne ou alimentation éventuelle),

- aux produits utilisés, gamme de corps gras caractéristiques, présentant des différences très accentuées les uns par rapport aux autres, l'ensemble formant les corps gras alimentaires,

- aux repas d'épreuve, c'est-à-dire à la quantité de graisse fournie et aux heures de prélèvement,

- à la position de l'épreuve dans le nycthémère.

Ces conditions initiales fixées, le résultat obtenu qui ne doit, en principe, refléter que la fonction d'absorption sera, en plus, fonction du transport, du catabolisme, du stock-age, de la mobilisation des réserves et de l'excrétion de la substance étudiée.

En effet, après ingestion de graisse, l'absorption continuelle de cette substance par la muqueuse intestinale et son passage dans la circulation sanguine seront opposés au passage concomittant du sang dans les tissus. La courbe d'hyperlipémie,

reflètant la tolérance aux graisses, représentera donc les différences dans les taux de ces deux procédés, absorption et utilisation ou stockage. Une augmentation anormale au cours de l'épreuve indiquera un défaut de tolérance et en mesurera l'importance. Une diminution ou une absence de réaction sera plus souvent fonction d'une perturbation de la digestion ou de l'absorption intestinale que d'un accroissement du stockage ou de l'utilisation tissulaire.

Enfin, il ne faut pas oublier que la lipémie est la résultante de nombreuses substances variant elles-mêmes pour leur propre compte.

L'étude de l'hyperlipémie alimentaire a été entreprise après observation dans le sang de globules réfringents, de particules visibles sur fond noir, surtout après un repas gras. Le comptage de ces particules ou hémoconies fut donc à l'origine du test d'hyperlipémie provoquée utilisé en 1910 par BRULE et LEMIERRE (67, 207). De nombreux travaux, basés sur l'augmentation des lipides plasmatiques consécutive à un repas normal, avaient déjà été réalisés auparavant par BUCHANAN (68), AHLFELD, chez l'homme, par LATTES chez le chien. Ce dernier auteur notait une augmentation voisine de 50 % des composés éthéro-extractibles sanguins après un repas gras. NEISSER (243) et BRAEUNING (60), après ingestion de 70 g de beurre et 100 g de crème, mesurent la hauteur de la couche grasse qui s'est formée dans le tube à centrifuger après quelques jours et utilisent ce test à des fins cliniques et diagnostiques. Ils notent également le temps d'apparition et le taux de la graisse dans le sang. Les travaux de MUNK et ROSENSTEIN (239) utilisant une quantité élevée de graisse - 200 g d'huile d'olive - ont permis l'étude des variations de l'épreuve sous l'influence des facteurs physiques tels que le poids, l'âge, le sexe du sujet ou de facteurs chimiques tels que l'influence des sels, des sucres ou des graisses. SCHELBE (289) met l'accent sur la difficulté à apprécier l'augmentation des lipides au cours de l'épreuve. LEVA (209) utilise le même repas d'épreuve que NEISSER, étudie également les chylomicrons mais insiste sur la distinction à faire entre les petites particules - faibles quantités de graisses - et les grandes particules - fortes quantités de graisses - Il émet la possibilité de différences qualitatives et quantitatives, selon la nature de la graisse, permettant de faire une distinction entre les différents corps gras tels que le lait, les oeufs, la crème, l'huile d'olive et le beurre.

Cette distinction a été faite également en 1924 par GAGE et FISH (144) qui, en utilisant comme repas d'épreuve 20 g de graisse, ont pu déterminer le temps d'apparition des chylomicrons dans le sang, l'absorption et l'utilisation d'une ou plusieurs graisses chez un seul ou plusieurs sujets ainsi que les conditions expérimentales nécessaires. Diverses huiles minérales ainsi que des acides gras ont tour à tour été utilisés au cours de leurs expériences.

A la même époque, divers auteurs parmi lesquels BANG, étudiant l'influence des hydrates de carbone sur la courbe d'hyperlipémie provoquée, notent une diminution très marquée ou même une abolition totale de la courbe après absorption de glucose per os ou par voie intraveineuse (202, 224, 282). BANG montre l'importance de ces courbes d'hyperlipémie, assimilables à celles de l'hyperglycémie, et qui permettent, outre le bilan des graisses, l'étude du mode de régulation des échanges des corps gras dans l'organisme et les troubles de leur métabolisme. Les travaux de NEUMANN (245), de BLOOR (40), de BING (27), de GREENWALD (155), de COWIE (91) et de HILLER (168), ne diffèrent que par la nature, la quantité des graisses absorbée ou par la fraction lipidique dosée.

Reprenant les travaux de COHN, de SCHIPPERS, de HAMBURGER et COLLAZO, MENDEL (230 bis), utilisant le beurre comme graisse de référence, étudie l'augmentation des graisses neutres et du cholestérol, les variations individuelles en fonction de l'âge et du sexe, de la nature de la graisse absorbée, le taux des lipides étant fonction de l'apport en graisse. Il s'appuie, dans l'interprétation de ses résultats, sur l'étude des courbes d'hyperlipémie obtenues, leur ascension brusque ou irrégulière, leur durée, leur retour à la normale lent ou prolongé.

En 1927, BURGER et HABS (70) préconisent un repas d'épreuve comprenant 100 g d'huile ou de beurre additionné de 5 g de cholestérol et aromatisé à l'essence de menthe. Les prises de sang ont lieu à la quatrième, huitième et vingt-quatrième heure après absorption et mettent en évidence le mécanisme régulateur de la lipémie et l'absence de turbidité du sérum dans les cirrhoses.

Les expériences sur l'homme et le chien (282) qui eurent lieu ensuite, permirent des progrès considérables quant au déroulement du test. MAN et GILDEA (224) mettent en évidence l'importance de la quantité de graisses par rapport au poids du sujet, 3 à 5 g par kg de poids étant nécessaires à la bonne marche de l'expérience, une quantité de 0,5 g provoquant des variations inconstantes. UNSHELM (328) constate que le cholestérol, par voie parentérale ou intramusculaire, offre le maximum de possibilités quant à l'étude de ce test. Il utilise la trioléine à raison de 1 à 2 g par kg de poids et étudie l'intérêt du test dans divers cas de néphrites et de néphrose lipoïdique. Ce test a d'ailleurs été utilisé par de nombreux auteurs dans l'étude de divers cas pathologiques - cirrhoses et néphrites (311), cirrhoses (117), atteintes de voies biliaires (170) et divers autres syndromes(341). Par contre, SCHMIDT-NIELSEN (291) utilise pour le même test des émulsions de lécithine, se bornant au dosage de l'hyperphosphatidémie. FRÖHLING (143) montre que le cholestérol n'a pratiquement aucune influence au cours de l'épreuve. Enfin, Mc CLURE et HUNTSINGER (220-221), après administration d'huile d'olive ou d'acide oléique, effectuent toutes les heures des prélèvements sur oxalate, sept heures durant et dosent, sur les divers échantillons ob-

tenus, les acides gras totaux, le cholestérol, les phospholipides et l'indice d'iode. RÜCKERT (285) et LEPPIEN (208) reprenant les travaux de BURGER et HABS, de LEITES (201), de WENDT (341), de PAGE, PASTERNACK et BURT (254) comptent aussi parmi les promoteurs de ce contrôle horaire, les grandes quantités de sang nécessaires à l'étude de l'hyperlipémie ayant jusque là limité les prélèvements. Les courbes obtenues étaient, du fait des variations de nourriture quotidienne, très irrégulières mais le contrôle horaire permettait néanmoins de mieux saisir le moment de l'absorption maxima.

Les expériences de NACHLAS (240), de SCHNORBUSCH (293), de WILSON (347), de VAN BOGAERT (329), si elles se rapprochent des conditions que nous énonçons plus loin quant au déroulement de l'épreuve, en différent cependant par les dosages effectués, lipides (293), lipoprotéines (347) ou graisses neutres (329).

L'épreuve d'hyperlipémie provoquée a souvent été réalisée parallèlement à d'autres épreuves fonctionnelles pour vérifier le fonctionnement du foie dans les échanges nutritifs. C'est ainsi que GNEITING (148), utilisant comme repas d'épreuve 100 g de beurre aromatisé à l'essence de menthe, y adjoint un test au galactose (21) et à l'albumine (225). WECHSLER (339), étudiant la concentration sanguine des lipides à des intervalles de temps donnés après ingestion d'une forte dose de graisses - 100 ml d'huile d'olive - montre le rôle du foie et du pancréas dans l'absorption des corps gras, les fluctuations des lipides totaux en fonction de l'âge et des états pathologiques et complète le test par l'épreuve de tolérance au dextrose de ROHDENBERG (281). Enfin HIRSCH et KAUFFMANN (171), réalisant leurs expériences sur des malades ou des convalescents de maladies infectieuses montrent les interactions entre les épreuves d'hyperlipémie et d'hyperglycémie, cette dernière provoquant une augmentation moins marquée des lipides.

Le mode d'administration des graisses a soulevé, à l'origine, de nombreux problèmes. A l'injection, dans les expériences de NOMURA (246), donnant une courbe typique à un sommet, MANCKE (226) substitue la voie orale - 100 g d'huile d'olive additionnée de pommes de terre - ou la sonde. L'étude des variations journalières et individuelles après administration des graisses et des cas pathologiques, a pu être ainsi facilement réalisée. De plus, les travaux de BURGER (71) ont approfondi les notions acquises quant à la tolérance aux graisses des sujets d'expérience. Utilisant une huile mentholée, il montre l'absence ou les cas rares de diarrhée postprandiale ou de troubles du transit.

L'influence des hormones sur le déroulement de l'épreuve d'hyperlipémie provoquée a été étudiée par SULLIVAN (313), mais surtout par VOGT-MOLLER (336) qui étudie l'hyperlipémie en absence de bile, de la sécrétion externe du pancréas, de vitamines et d'hormones. Il utilise pour ses expériences 100 g d'huile d'olive, des quantités de 30 et 50 g ne lui donnant que des résultats inconstants.

Le mode de prélèvement sur les anticoagulants usuels, oxalate, citrate pour BOYD (57) qui fixe la quantité de graisse à administrer à 200 g , consommation voisine de la normale d'un repas gras, a fait également l'objet de nombreux travaux. Ceux de OKEY (247) mettent en évidence la légère irrégularité produite par les anticoagulants en général et surtout par la centrifugation, le plasma étant moins désirable dans l'étude du déroulement de l'épreuve que le sang total.

MAURIAC (229) montre que l'on ne peut indéfiniment prolonger le nombre de prélèvements sous peine d'hyperlipémies hémorragiques. Ses épreuves, utilisant 100 ml d'huile d'olive aromatisée au jus de citron, ont, en outre, permis la classification des diabétiques en trois groupes selon le type de courbe obtenue.

En 1936, les travaux de FRAZER (129-135) donnent au test d'hyperlipémie provoquée un nouvel essor. Le repas d'épreuve utilisé consiste en 100 ml d'huile d'olive. Le dosage des chylomicrons, des graisses neutres, du cholestérol sur des échantillons de sang prélevés à des intervalles de 30 minutes jusqu'à la quatrième heure, montrent l'augmentation et la diminution des particules sanguines parallèlement aux graisses, ainsi que les variations déjà mises en évidence selon l'âge et le poids du sujet. BLOOR (42), KABELITZ (180), utilisant le beurre et l'huile d'olive, et BLACK (28, 29) obtiennent des résultats analogues en dosant les lipides seuls.

En 1947, MORETON (234, 235) utilise le comptage des chylomicrons dans les heures suivant l'ingestion d'un repas gras standard dans l'expression d'un "fat tolerance test". Les huiles utilisées, notamment l'huile d'olive, provoquent des nausées chez les sujets d'épreuve, perturbant ainsi les courbes d'hyperlipémie. Il utilise le beurre, et même de préférence la crème, comme graisse de référence. La quantité de graisse utilisée est déterminée en fonction de l'aspect individuel, en se référant aux tables de DU BOIS (111). Après absorption d'un repas dépourvu de graisses la veille de l'épreuve, le sujet est ponctionné à jeun, puis, après ingestion d'un petit déjeuner et de graisses, toutes les heures. D'une manière générale, MORETON utilise le plus fréquemment une quantité de 50 g de graisses.

Cette même épreuve permet en 1950, à ZINN et GRIFFITH (351) de faire la distinction entre sujets athéromateux et non athéromateux.

FROEHLICH (141, 142), dans ses expériences sur l'hyperlipémie normale et pathologique, effectue une étude très poussée de ce test, et en fixe les normes, l'épreuve d'hyperlipémie étant fonction, soit d'une quantité fixe de graisses, soit d'une quantité proportionnelle au poids du sujet, la quantité minima ayant été fixée par TAJIMA (318) à 0,2 ml et par MAN et GILDEA (224) à 0,6 ml par kg de poids du sujet. S'appuyant sur les résultats fournis par l'utilisation du repas d'épreuve de BURGER et HABS,

soit 100 g d'huile et 5 g de cholestérol, il utilise 100 g d'huile additionnée de pommes de terre et de salade ou 100 g de beurre et 30 g de pain. Par ailleurs, il montre que 20 g de graisses permettent l'apparition des hémoconies.

Les travaux de PETERS (257 bis) avaient montré auparavant que l'épreuve d'hyperlipémie était réduite quant au taux et à la durée lorsque l'on administrait peu de graisses. ARNOLDI (8), BLACK (29), Mc CLURE (220, 221) et HIRSCH (171), utilisant de faibles quantités de corps gras, montrèrent que, au contraire, les résultats en étaient peu influencés. FROEHLICH, étudia également le rôle de facteurs tels que le mode d'administration des graisses, la sonde, par exemple, provoquant une perturbation des réflexes digestifs normaux, le rythme de l'évacuation gastrique, les phénomènes d'intolérance digestive aux graisses sous forme d'une évacuation accélérée déjà montrée par BURGER et qui négativent l'épreuve. Effectuant ses prélèvements sur oxalate chez un sujet à jeun puis 2, 4, 6 et 8 heures après absorption d'un repas gras, FROEHLICH dose la lipémie totale, les graisses neutres, le cholestérol, les phospholipides et l'insaponifiable. Il étudie les relations entre les épreuves d'hyperlipémie et d'hyperglycémie provoquées, l'influence des protéines qui, administrées simultanément, provoquent une diminution de la tolérance aux graisses. Ses travaux s'étendent également au domaine pathologique, notamment aux stéatoses et aux affections pancréatiques.

A la même époque, les expériences de TERROINE (321) et de BANG, au saindoux et au beurre de cacao ne font que confirmer l'influence de la nature des graisses sur le déroulement de l'épreuve.

Ces dernières années, de nombreux travaux, différents soit dans leur but - étude de l'athéromatose (223, 261, 290) - soit par la technique utilisée - numération des hémoconies (146, 253), dosage des lipides (1, 275), des graisses neutres, des phosphatides et du cholestérol (travaux de RILLIET) - ont été réalisés. Reprenant les travaux de MORETON, de WECHSLER (339), de SCHETTLER (115) et CHAIKOFF, HANNERL et PICHLER (160) étudient les relations entre l'apport alimentaire et l'artériosclérose. Ils utilisent 1 g d'huile par kg de poids du sujet et effectuent leurs prélèvements à jeun et après des temps déterminés soit 30 minutes, 1, 2, 4, 6 et 8 heures. CHAIKOFF (82) utilisant un repas d'épreuve de 100 ml d'huile d'olive aromatisée au sirop de menthe et de 200 ml d'eau, effectuant ses prélèvements toutes les deux heures pendant 10 heures, montre que l'épreuve d'hyperlipémie se trouve placée, non seulement sous l'influence de l'absorption, mais aussi de l'utilisation des graisses par les tissus. Le sujet d'expérience est placé au jeûne 10 à 14 heures avant l'épreuve et gardé au repos pendant toute la durée de l'épreuve. Le dosage du cholestérol et des acides gras permet l'étude des variations de ces deux fractions.

SALAMIN et coll. (286), utilisant des quantités de 50 et 75 g de beurre ainsi que des quantités identiques d'huile de maïs, montrent la proportionnalité entre la dose de graisse ingérée et l'intensité et la durée de la turbidité. Ils effectuent le dosage des chylomicrons par spectrophotométrie, des lipides totaux, du cholestérol, des phospholipides et des acides gras, les graisses provoquant une augmentation de la turbidité du sérum à des degrés variables selon la nature et la quantité de la graisse utilisée. Ils étudient l'intérêt de ce test dans l'athérome et divers états pathologiques tels que l'acidose diabétique.

BÖHLE et SCHRADE (44), poursuivant les travaux déjà entrepris par ce dernier auteur (296, 297) ainsi que ceux de EGGSTEIN et SCHETTLER (115) et de PIKAAR, utilisent des doses identiques - 50 g de différentes huiles, coco, maïs, olive et de beurre - et étudient les variations des lipides totaux par pesée, des chylomicrons par turbidimétrie sur des échantillons de sang prélevés toutes les heures pendant sept heures. Ils dosent également les acides gras essentiels et utilisent le test pour une classification des troubles du métabolisme des lipides en hyperlipémie symptomatique, idiopathique, d'origine hépatique, artériosclérose et diabète.

DOLE et ses collaborateurs (109) montrent que l'analyse des lipides en période postprandiale reflète la composition de la graisse ingérée.

Plus récemment, utilisant les techniques d'isolement de BRAGDON (61), la transformation en esters méthyliques ou l'étude par chromatographie en phase gazeuse, BRAGDON et KARMEN (62) effectuant leurs recherches sur les rats - 1 ml d'huile de coco, d'olive ou de foie de morue - et sur l'homme - 2 g par kg de poids d'huile de maïs ou de coco - montrent une recombinaison des acides gras des chylomicrons et des tissus, les transformations chimiques intervenant pendant l'absorption à travers la paroi intestinale. CORNWELL et KRUGER enfin, utilisent le dosage des lipoprotéines dans l'étude des fractions de la lipémie totale.

## Chapitre III

## LES DIFFERENTES FRACTIONS LIPIDIQUES
## -TECHNIQUES DE DOSAGE-

### I - LES LIPIDES TOTAUX.

Les différentes méthodes utilisées dans le dosage de la lipémie peuvent être classées en quatre groupes :

1°) Le dosage par turbidimétrie, basé sur la floculation des lipides et leur détermination opacimétrique. Etudiée par KUNKEL, AHRENS et EISENMENGER (190), cette méthode ne nécessite que de faibles quantités de sérum et est surtout utilisée aujourd'hui dans l'étude des désordres hépatiques. Elle n'est pas spécifique et peu sensible.

2°) La méthode dite "au lipocrite" basée sur la faible densité des lipides du sérum après destruction des lipoprotéines, nécessite moins de 2 ml de sérum. Elle fut préconisée en 1931 par RÜCKERT (285) et s'inspire de la méthode de dosage des graisses du lait de GERBER (147). Des modifications, telles que celle de COLLINS et WAAGSTEIN ou celle plus récente de BRANDSTEIN et CASTELLANO (65) ont été apportées à cette méthode, mais sa précision demeure très faible - 0,5 g %o environ.

3°) Les méthodes basées sur l'extraction des lipides du sérum par un solvant organique et le dosage ultérieur des extraits obtenus par néphélométrie, gravimétrie, titrimétrie, colorimétrie, et gazométrie.

Dans ces méthodes, l'extraction peut se faire à chaud ou à froid, grâce à différents solvants organiques tels que l'éther, l'éther de pétrole, l'éthanol, le chloroforme et le méthylal.

Appliquée pour la première fois à l'étude des lipides du tissu musculaire par KUMAGAVA et SUTO (189), la méthode gravimétrique fut modifiée par SCHMIDZU (292) et appliquée au dosage des lipides sanguins. Elle présente cependant l'inconvénient d'être longue et nécessite de grandes quantités de sérum. De plus, selon LEMELAND (206) en 1922, les acides gras peuvent être, au cours de l'évaporation des solvants, l'objet d'une autooxydation.

Le dosage des lipides par la méthode de BLOOR (41) en 1914 ne nécessite que 2 ml de sang. L'extrait lipidique, après saponification, évaporation, neutralisation, est dosé par néphélométrie. Mais les variations observées quant aux résultats obtenus pour les acides gras et le cholestérol (30) ont quelque peu contribué à rejeter cette méthode.

La méthode de BANG (16) en 1918, est basée sur l'oxydation, après extraction des lipides, par un excès de mélange sulfochro-

mique, excès dosé en retour par iodométrie. Des modifications de cette méthode - évaluation colorimétrique - sont à la base de nouvelles techniques de dosage des lipides totaux (42, 43, 58, 63).

Le principe de l'oxydation des lipides par l'acide chromique est de même à la base de la méthode gazométrique de VAN SLYKE et KIRK (184, 330) : le gaz carbonique qui se dégage est dosé selon la technique de VAN SLYKE et FOLCH (331).

4°) La méthode de colorimétrie directe que nous avons utilisée au cours de nos dosages.

Toutes les méthodes dont le principe a été exposé plus haut ne possèdent pas la précision et la sensibilité des méthodes gravimétriques. Ces dernières présentent cependant l'inconvénient majeur de nécessiter de grandes quantités de sérum. Elles aboutissent toutes à une pesée de l'extrait obtenu (98, 312, 339, 347, 348) mais diffèrent entre elles par le solvant d'extraction utilisé (41, 93, 98).

Techniques utilisées.

a) Méthode de référence : technique de DELSAL (98).

Nous avons utilisé pour le dosage de la lipémie totale comme méthode de référence, dans le choix d'une technique de dosage dans les cas pathologiques, la méthode de DELSAL : elle s'accomplit en quatre temps :

- extraction des lipides du sérum par un solvant organique, mélange de méthylal - 4 parties - et de méthanol - 1 partie.

- séparation et lavage du précipité protéique obtenu par centrifugation.

- évaporation du liquide extractif qui a entraîné les lipides.

- purification de l'extrait brut par reprise au benzène puis évaporation et pesée.

Afin de réduire l'erreur sur la pesée finale, nous avons opéré avec une prise d'essai de 3 ml, en utilisant des quantités de solvants adaptées à cette prise d'essai.

Préparation de l'extrait brut :

Dans un tube à centrifuger conique, contenant le solvant organique, on laisse écouler goutte à goutte et en agitant 3 ml de sérum sanguin. On mélange et on centrifuge. On décante dans un bécher le liquide trouble surnageant le culot protidique. On procède à trois lavages successifs du culot de centrifugation en prenant la précaution de remettre ce dernier en suspension. On centrifuge à chaque fois et on joint les liquides de lavage au contenu du bécher. La centrifugation à 5000 tours/minute pendant 3 minutes est suffisante pour séparer le culot protidique. Après évaporation à douce température, environ 50°, on obtient l'extrait brut.

Purification de l'extrait brut :

Constitué de lipides et de sels minéraux, il est repris par le benzène. On opère par petites fractions successives. Chaque fraction est filtrée sur un filtre sans pli et le filtrat recueilli dans un cristallisoir séché et taré. L'évaporation à 50° à l'étuve se fait jusqu'à poids constant.

b) Méthode par oxydation sulfochromique :

La méthode de BANG, introduite en France par DURUPT (112) et reprise par COLIN et POLONOWSKI (90), si elle présente l'avantage de n'utiliser que 0,5 ml de sérum, a l'inconvénient d'opérations préliminaires très strictes car de nombreuses substances organiques - les solvants utilisés notamment - et quelques substances inorganiques peuvent également subir l'oxydation.

Elle s'accomplit en trois temps distincts :

- l'extraction qui se fait dans un erlenmeyer surmonté d'un petit réfrigérant à reflux. 0,5 ml de sérum sont ajoutés goutte à goutte dans 15 ml d'un mélange éthéro-alcoolique (1 partie/ 3 parties). Après trente minutes au bain-marie - temps nécessaire pour amener le solvant à l'ébullition - filtration et lavage du précipité par le mélange extractif, le filtrat est évaporé à sec et repris par de l'éther anesthésique ajouté en faibles proportions et filtré au fur et à mesure. La liqueur éthérée est portée 6 heures environ à 100°, jusqu'à évaporation totale des solvants. La moindre trace d'alcool ou d'éther entraîne en effet la réduction de quantités notables de réactif nitrochromique.

A cette méthode d'extraction nous avons substitué celle plus classique de DELSAL au mélange méthylal-méthanol et reprise du résidu par le benzène.

- l'oxydation qui se fait par action d'une solution 2 N de bichromate de potassium - 1 ml - et d'acide nitrique pur ajouté goutte à goutte - 5 ml . Le résidu d'extraction et le réactif nitrochromique sont laissés en contact 15 minutes. L'apparition d'une coloration verte indique une forte teneur en graisses du résidu d'extraction et nécessite l'addition d'une nouvelle quantité de réactif.

Dans le but de parfaire l'oxydation, nous avons essayé de chauffer les extraits lipidiques et la solution oxydante préparée extemporanément au bain-marie à 100°. Un temps de chauffage de 20 minutes nous a semblé plus apte à une oxydation maxima des composés lipidiques du sérum (Tableau I).

Tableau I

Influence du temps de chauffage sur l'oxydation nitrochromique des lipides sériques

| | essai à blanc | Temps de chauffage en minutes | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 5 | 10 | 15 | 20 | 30 | 45 |
| Quantité de solution oxydante utilisée en ml | 10,2 | 8,1 | 6,5 | 5,4 | 4,5 | 5,5 | 6,4 |
| Taux de lipides en g ‰ | | 2,1 | 3,55 | 4,6 | 5,47 | 4,51 | 3,8 |

(L'expérience a été effectuée sur un sérum dont la teneur en lipides totaux dosés par la méthode de DELSAL est une fois de 5,73 g ‰ et l'autre fois de 5,86 g ‰).

- le titrage : le mélange est transvasé dans un récipient plus grand en lavant avec 150 ml d'eau distillée. On ajoute ensuite 10 ml d'une solution d'iodure de potassium à 10 % fraîchement préparée et on titre par l'hyposulfite de sodium N/10.

Il est indispensable de faire chaque fois un témoin à blanc.

Selon BANG, sachant que 1 ml d'une solution N/10 de bichromate correspond à 0,48 mg de graisses pour une prise d'essai de 0,5 ml, il suffit de multiplier le chiffre obtenu par soustraction de la valeur du témoin et de celle du dosage par 0,96 pour connaître la teneur en graisses de l'extrait.

Nos expériences utilisant des quantités croissantes d'une solution de trioléine à 0,5 g ‰ dans du méthylal (tableau II) nous ont permis de retrouver approximativement le coefficient 0,96 établi par BANG. Les résultats obtenus par cette méthode d'oxydation comparés à ceux de la méthode de DELSAL nous ont montré des divergences plus ou moins importantes, semblables d'ailleurs à celles que nous montrent les épreuves d'hyperlipémie de COLIN et POLONOWSKI.

Tableau II

Détermination du coefficient d'oxydation des lipides (trioléine) par le mélange nitrochromique

| Solution de trioléine en ml | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 0,8 | 1 | 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Quantité de trioléine en mg | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 10 |
| Quantité de solution oxydante utilisée en ml | 1,2 | 2,2 | 3,3 | 4,2 | 5 | 11,8 |
| Coefficient d'oxydation | 1,2 | 1,1 | 1,1 | 1,05 | 1 | 1,18 |

c) Méthode colorimétrique (315) :

Cette méthode est basée sur le principe suivant :

- dépôt du sérum sur un papier filtre.
- coloration des lipides par une solution saturée de noir Soudan dans l'alcool à 50 %.
- lavage du papier filtre dans l'alcool à 50 %.
- élution par un mélange d'acide acétique et d'alcool absolu.
- évaluation photocolorimétrique de la coloration obtenue à la longueur d'onde de 590 mμ.

Technique : Une bande de papier filtre pour électrophorèse (Whatman n° 1) est divisée en huit sections de quatre centimètres chacune. L'une de ces sections est laissée libre et sera utilisée comme témoin à blanc. Une solution de trioléine à 1000 mg/100 ml dans l'alcool absolu est utilisée comme témoin et permet de calculer le taux de lipides présent dans le sérum à étudier. 0,02 ml de sérum et de trioléine sont respectivement disposés à l'aide d'une micropipette au centre de l'une de ces sections et laissés à température ambiante jusqu'à évaporation complète.

Le papier filtre est ensuite immergé dans une solution alcoolique de noir Soudan, en cuve fermée, pendant trois heures, temps optimum pour un équilibre dans la distribution du colorant entre l'éthanol et les lipides présents.

La préparation de la solution de noir Soudan revêt une très grande importance puisqu'elle conditionne la qualité de la coloration finale, due à un processus de dissolution physique et non à une réaction chimique comme pour les protéines. On utilise pour la préparation du bain colorant un solvant alcoolique. Le colorant est plus soluble dans les lipides que dans le solvant alcoolique qui sert à le préparer. Sa solubilité diminue lorsque la concentration de l'alcool décroît : elle est faible dans l'alcool à 50 % .

La saturation du colorant est obtenue avec 0,1 g %o dans l'éthanol à 50 %, solution que l'on place dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux et que l'on porte à ébullition. Lorsque le bain est refroidi, on le filtre sur un papier Whatman n° 1. L'ébullition est une opération indispensable : elle permet d'une part une meilleure filtration, d'autre part l'obtention d'une solution libre de toute suspension colloïdale de noir Soudan gênant la coloration et entraînant des erreurs au cours de l'élution.

Au bout de trois heures, le papier est lavé à trois reprises successives durant 15 minutes dans l'alcool à 50 %, afin d'éliminer l'excès de colorant absorbé par le papier. Différents essais nous ont montré qu'un seul lavage de 15 minutes par agitation mécanique permettait d'éliminer le colorant.

Après coloration, le sérum apparaît sur la bande sous la forme d'une tache dont la teinte va du bleu au bleu pâle sur un fond blanc ou très légèrement teinté. Chaque section de la bande est ensuite découpée et placée pendant 30 à 60 minutes dans 4 ml d'une solution éluante constituée par de l'acide acétique à 20 volumes pour cent dans l'alcool absolu (1 partie/4 parties).

Le coefficient d'extinction de la solution est ensuite lu contre le blanc au spectrophotomètre Beckman à 590 mμ dans des cuves de 1 cm d'épaisseur. Les valeurs obtenues, comparativement à celles données par la solution de trioléine, nous permettent de calculer la teneur en lipides du sérum à étudier :

$$\text{valeur obtenue pour le sérum} \times \frac{\text{teneur en lipides (mg/100 ml) de la solution de trioléine}}{\text{valeur obtenue pour la solution de trioléine}}$$

Conclusion :

La méthode de SWAHN donne en moyenne des valeurs plus faibles que la méthode de DELSAL : la différence moyenne est de 0,32 g %o. Elle est significative à 0,02 (t = 2,60 avec 56 dosages effectués).

La méthode de BANG donne également en moyenne des valeurs plus faibles que la méthode de DELSAL. La différence moyenne est de 1,47 g %o. Elle est significative à 0,001 (t = 4,90 avec 37 dosages effectués).

Il s'avère d'autre part qu'il existe une bonne corrélation linéaire entre les valeurs obtenues par la méthode de SWAHN et celles obtenues par la méthode de DELSAL. Le coefficient de corrélation (r) de BRAVAIS-PEARSON est de 0,95 avec 56 dosages. Par contre, il n'y a pas de corrélation linéaire correcte entre les valeurs obtenues par la méthode de BANG et celles de DELSAL (r = 0,58 avec 37 dosages effectués).

Si nous comparons les méthodes de SWAHN et de DELSAL, l'ordonnée à l'origine diffère significativement de 0 et la pente diffère significativement de 1. Ceci permet de conclure en disant que, par rapport à la méthode de DELSAL, la méthode de SWAHN surestime pour les faibles valeurs de lipides et sous-estime aux fortes valeurs de lipides.

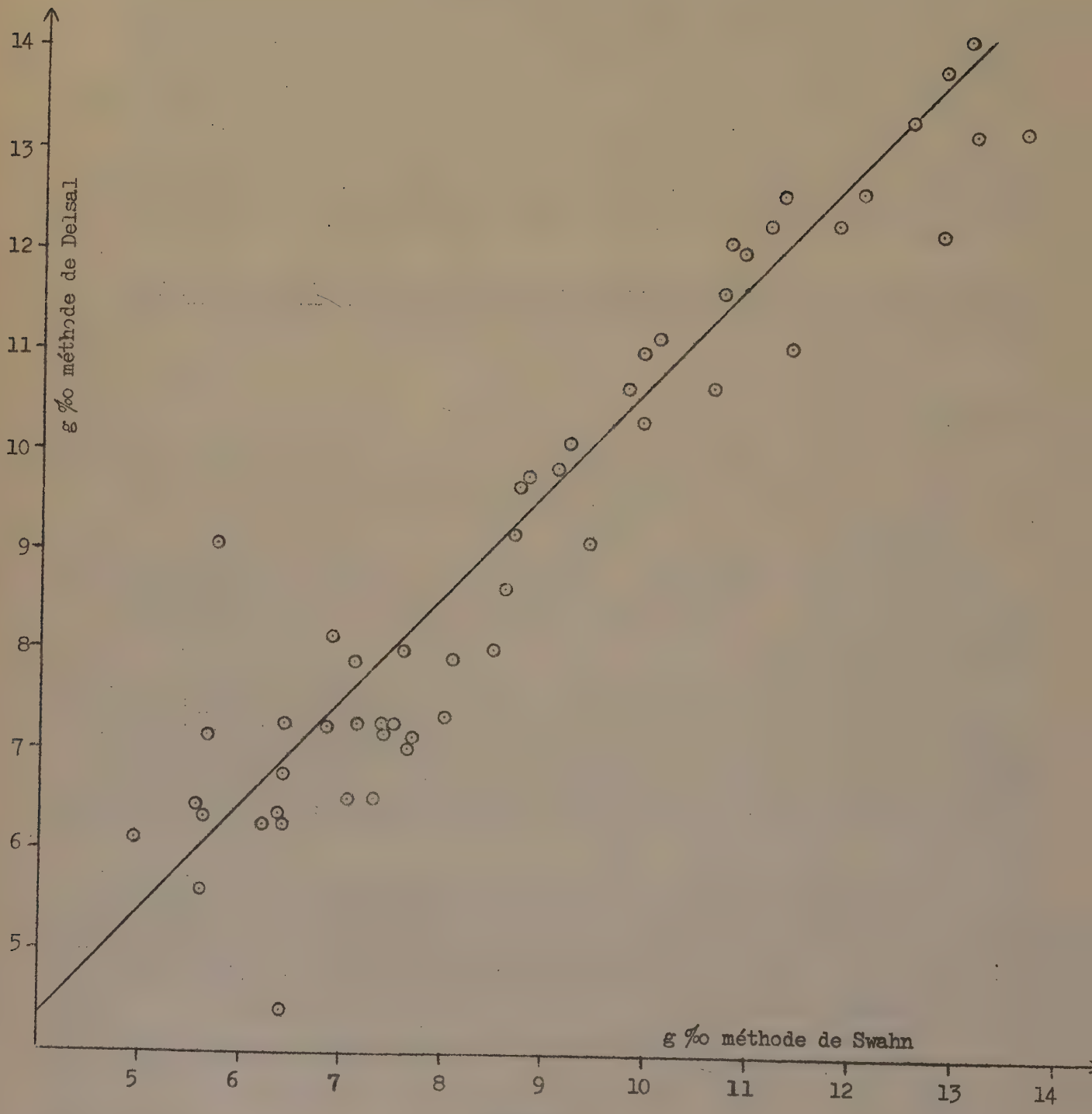



Figure 1.

Méthodes de DELSAL et de SWAHN : Nuage de corrélation.

## II - LES CHYLOMICRONS

On sait depuis longtemps que l'on peut observer dans le sang, après un repas gras, la présence de globules réfringents. Après avoir traversé la muqueuse intestinale, la plus grande partie des graisses apparaît dans les vaisseaux chylifères sous forme d'une fine émulsion. Durant la période postprandiale, les particules de cette émulsion sont responsables de la lactescence du plasma (61). Ces particules diffèrent des lipides circulants et ont été classées par électrophorèse en lipoprotéines alpha et béta mais doivent être, en réalité, beaucoup plus complexes (213).

Les chylomicrons, qui sont à l'origine de certaines de ces lipoprotéines, ne représentent en fait, qu'un état transitoire.

ASELLIUS, en 1622, fut le premier à observer la lactescence du sérum après un repas gras. Ce ne fut cependant qu'en 1771 que HEWSON (167 bis) nota la présence de particules, d'aspect uniforme et de nature graisseuse. De nombreux travaux (209, 243-245, 265, 289) permirent ensuite de définir plus exactement leur nature et leur relation avec la constitution physico-chimique des lipides alimentaires, travaux dont la synthèse fut réalisée, en 1924, dans les expériences de GAGE et FISH (144), expériences qui constituent l'un des premiers tests d'hyperlipémie provoquée: "fat tolerance test". Aux différents noms donnés à ces particules, mais qui ne reflètaient en rien leurs caractères (69) et dont nous retiendrons que celui d'hémoconies, ils substituent celui de chylomicrons qui indique d'une part leur origine, le chyle, d'autre part leur petite taille. Ils étudient également les variations de ces particules pendant le nycthémère et au cours de divers états pathologiques.

A l'aspect uniforme de ces particules, FRAZER (129-131) oppose la présence de deux types de particules, les unes brillantes, minuscules ou de grande taille et riches en graisses, les autres ternes, d'aspect uniforme contenant plus de protéines (94). Il établit de même la différence entre les chylomicrons et les lipomicrons, particules trouvées en période de jeûne et dont la source n'est pas le chyle, mais les dépôts de graisse, par exemple.

Aucune réaction de précipitation, de floculation, ni la centrifugation à grande vitesse (134), ni les réactions enzymatiques ne permettent la distinction entre ces deux types de particules (116). Seul leur aspect peut les différencier (133).

Les travaux de MORETON (234), de ZINN et GRIFFITH (351), de GOFMAN et de ses collaborateurs (152) ne portent que sur l'utilisation de nouvelles méthodes de dosage ou d'isolement des chylomicrons, soit par turbidimétrie, soit par ultracentrifugation et sur leur détermination, dans des cas normaux ou pathologiques tel l'athérosclérose.

Ceux plus récents d'un certain nombre d'auteurs (24, 45, 109, 158, 166, 200, 241, 286, 290, 344), ont de même permis la mise au point de nombreux procédés d'étude des chylomicrons. Au cours d'épreuves d'hyperlipémie provoquée, ces auteurs constatent les modifications du nombre des chylomicrons et de la quantité de graisses neutres du sérum en fonction de l'âge, de divers états pathologiques mais également de la quantité et de la qualité des graisses ingérées.

Isolement des chylomicrons.

Malgré la difficulté soulignée par de nombreux auteurs, dont FRAZER, à obtenir les chylomicrons à l'état pur, les techniques récentes d'ultracentrifugation, de détermination du coefficient de flottation (61-62, 109, 164, 215, 280), d'isolement au bleu de toluidine (196) ou à la protamine (197), enfin les méthodes électrophorétiques ont permis leur obtention et leur étude physico-chimique (193, 196-197, 198, 315).

Les méthodes d'ultracentrifugation (61, 164, 279-280) ne diffèrent entre elles que par les vitesses utilisées (61-62,109, 164, 215, 280) et par le taux de protéines obtenu aux vitesses les plus hautes. D'une manière générale, il semble que les fractions chylomicronémiques les plus pures sont celles obtenues à la vitesse la plus faible dans le temps le plus court.

Les méthodes électrophorétiques, que FRAZER fut l'un des premiers à utiliser (135) et la détermination des lipides soit directement par l'intensité de la coloration ou du colorant après élution, soit indirectement par le dosage des différents constituants au niveau de chaque tache (175-176, 192, 195, 204-205,315, 350) ont permis la séparation de fractions de poids moléculaire élevé, n'apparaissant qu'au cours de l'hyperlipémie postprandiale et de divers états pathologiques, les chylomicrons. L'organisme lutte pour se débarrasser de cette fraction lipidique insoluble et cherche, pour ce fait, à la transformer en une deuxième fraction, les lipoprotéines.

Propriétés des chylomicrons.

L'ingestion des lipides provoque l'apparition dans le sang de chylomicrons, essentiellement formés de graisses neutres (61, 137, 164, 196). En raison de leur association avec de faibles quantités de protéines (tableau III), on les assimile couramment aux lipoprotéines. Ils représentent une fraction essentielle dans le métabolisme des lipides (186).

Ils contiennent également du cholestérol en quantités très variables, de 3 à 20 % selon les auteurs et des quantités plus ou moins faibles de phospholipides, souvent le rapport de ces constituants est de 2/1. La présence de ces phospholipides a été très discutée (SWANK et WILMOT, FRAZER). L'ingestion de lipides n'en-

traîne aucune modification du cholestérol et des phospholipides (113). Enfin de faibles quantités d'acides gras ont été mises en évidence.

Tableau III

Composition des chylomicrons

| Protéines | Triglycérides | Phospholipides | Cholestérol | |
|---|---|---|---|---|
| | | | libre | estérifié |
| 2,5 % | 81 % | 7 % | 3 % | 6 % |

D'une densité de 0,92 (249), et d'un Sf fortement supérieur à 400 (10.000 ± 5.000), les chylomicrons reflètent la composition lipidique des graisses ingérées (62). On a longtemps supposé que les chylomicrons du sang étaient identiques à ceux de la lymphe, mais les travaux de LAURELL (196), de FRAZER, BLIX et MAC FARLANE ont montré que ces derniers migraient avec une mobilité voisine de celle de l'albumine (197, 313), ceux du sang voisine des alpha 2 globulines (196, 198, 313). Il existerait également une différence assez sensible entre les chylomicrons postprandiaux et ceux des hyperlipémies (178).

Méthodes de dosage des chylomicrons.

1°) Comptage direct :

A l'origine, l'étude des chylomicrons s'est limitée à leur simple observation microscopique. Les difficultés soulevées par le fait que ces particules étaient animées de mouvements browniens ont longtemps constitué un obstacle à leur détermination quantitative.

Une des premières numérations de ces particules a été réalisée par EDMUNDS (114) en 1877; LEVA (209) en 1909, propose une évaluation moins quantitative des chylomicrons, groupant ces derniers en quatre classes, selon leur densité par champ d'observation. GAGE et FISH, BRULE et LEMIERRE (67, 207), utilisent la technique de comptage des chylomicrons de sérums normaux, à jeun et après ingestion d'aliments gras, ou de sérums pathologiques. Ils montrent la possibilité de compter les chylomicrons sur une surface restreinte en utilisant un microscope à fond noir muni d'un objectif à immersion à huile et d'un micromètre oculaire. Le comptage s'effectuait en cinq endroits différents afin de réduire les erreurs. Les résultats étaient exprimés sur un graphique, les heures en abscisse et les chylomicrons en ordonnée. Seules les particules mobiles brillantes étaient comptées, les autres, immobiles, étant le fait d'imperfections matérielles.

FRAZER effectue des comptages multiples et utilise dans le cas de repas simples la comparaison avec un sérum étalon. Les

solutions riches sont diluées à l'eau ou par des solutions salines afin de diminuer le nombre de particules par champ (116). Il exprime ses résultats par des courbes ou "chylomicrograph" dont l'allure est variable selon que l'on s'adresse à un sujet à jeun, en période postprandiale ou pathologique.

La méthode de comptage des chylomicrons, si elle permet la mise en évidence de l'amplitude et de la durée de l'absorption d'un repas gras, ne rend pas compte de la quantité de graisses qui passent dans le sang puisqu'elle néglige les variations de taille et d'aspect des particules (hyper- et macrochylomicronémie). De plus, si les résultats exprimés rendent compte des variations obtenues par le comptage des chylomicrons d'un observateur à l'autre, d'une préparation à l'autre, l'absorption d'une quantité importante de graisses rend impossible tout comptage, même sous une faible épaisseur du fait du nombre des chylomicrons présents et nécessite donc des dilutions importantes d'où nouvelle source d'erreurs.

2°) Mesures optiques :

Toutes ces imperfections ont amené MORETON (235), ainsi que OSMON, ZINN, WHARTON (253) et GARDNER (146), à remplacer le comptage des chylomicrons par la mesure de l'effet TYNDALL ou de la densité optique du sérum. En effet, les particules lipidiques sont visibles à l'ultramicroscope seulement par la dispersion de la lumière incidente.

Cette dispersion, réalisée par une solution contenant des particules en suspension, augmente tant avec l'aspect qu'avec le nombre de particules en présence. Par contre, les solutions vraies, dépourvues de particules en suspension, paraissent optiquement vides. La détermination quantitative de l'effet Tyndall produit par différents sérums représente donc une méthode simple de comparaison du degré d'une hyper- ou d'une macrochylomicronémie. Par conséquent, en utilisant un flux lumineux d'intensité constante, les sérums contenant un nombre élevé de particules lipidiques dispersent la plus grande partie de lumière. Sur ces données, MORETON mit au point une méthode néphélométrique permettant la mesure quantitative de l'effet Tyndall dans les sérums normaux et pathologiques. Les résultats obtenus, constants et superposables, reflètent aussi bien l'aspect que le nombre des particules. MORETON exprime arbitrairement ses résultats en unités néphélométriques par rapport à un standard que nous avons utilisé et que nous décrivons plus loin.

TRAVAUX PERSONNELS.

Nous avons utilisé pour la détermination des chylomicrons la technique suivante :

4 ml de sang sont centrifugés et le sérum, après décantation est soumis à une nouvelle centrifugation pour éliminer les parti-

cules éventuelles (globules, poussières, bactéries). On mesure sur ce sérum ou sa dilution au sérum physiologique la diffusion lumineuse produite par les chylomicrons en déterminant l'intensité de la lumière rouge (h = 630 mμ) qui diffuse à 90°.

Ce dosage des chylomicrons se trouve régi par la loi de RAGLEIGH sur l'absorption d'un milieu trouble, qui démontre la proportionnalité entre la concentration du milieu et le flux lumineux diffusé. Au-delà d'une certaine valeur, la diffusion secondaire entraîne des erreurs. La grosseur des particules intervient également selon les conditions d'observation. A masse suspendue égale, les grains fins amènent un flux diffusé autour de 70° plus important que les gros, sauf en lumière rouge, où il y a à peu près égalité. C'est pourquoi nous avons utilisé cette lumière.

Les valeurs sont exprimées, arbitrairement en un indice chylomicronémique (I.C.) obtenu par comparaison avec une solution standard. Cette dernière est préparée en mélangeant dans un tube à essai 1 ml d'une solution de $SO_4Na_2$ à 0,005 M dans la glycérine pure et 1 ml d'une solution de $Cl_2Ba$ à 0,005 M également dans la glycérine. Ces solutions sont chauffées légèrement afin de faciliter la dissolution des sels. Après mélange, on porte la solution au bain-marie bouillant pendant 5 minutes puis on laisse refroidir. L'indice de diffusion de cette solution est règlé à 50 sur notre appareil.

MORETON a utilisé une solution standard identique, mais lui donne une valeur arbitraire de 100 unités néphélométriques. Les valeurs de l'indice chylomicronémique obtenues sur nos sérums seront donc plus faibles que les siennes, mais les variations seront comparables.

La mesure de cet indice est effectuée sur le fluoromètre Photovolt 540 légèrement modifié. Il comporte une source lumineuse : une puissante lampe à vapeurs de mercure, un système optique, un filtre primaire et une chambre d'essais.

Sur le côté de cette chambre d'essais, à 90° par rapport au faisceau lumineux incident, sont fixés, le filtre secondaire et un multiplicateur d'électrons. Ce photomultiplicateur mesure normalement la lumière de fluorescence. Il est relié à un photomètre gradué de 0 à 100 possédant quatre sensibilités.

Le fluoromètre Photovolt 540 comporte normalement deux filtres, un filtre primaire qui permet, en fluorescence, de sélectionner la lumière excitante et un filtre secondaire qui filtre la lumière de fluorescence. Dans nos expériences, nous remplaçons le filtre primaire par un filtre à transmission maxima à 630 mμ et nous ne plaçons aucun filtre sur le porte-filtre secondaire. Ainsi la cuve carrée de l'appareil reçoit un faisceau lumineux de lumière rouge et le photomultiplicateur est frappé par la lumière diffusée à angle droit.

Fluoromètre utilisé comme diffusomètre

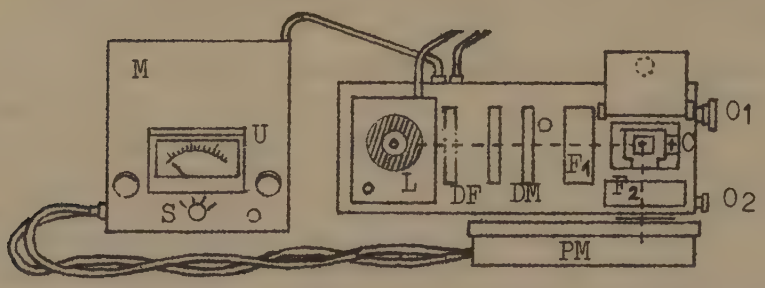



Figure 2.

| | |
|---|---|
| L - lampe | $O_1, O_2$ - obturateurs |
| DF - diaphragmes fixes | PM - photo-multiplicateur |
| DM - diaphragme mobile | M - milliamperemètre |
| $F_1$ - filtre rouge | S - 4 sensibilités |
| C - cuve et porte-cuve | U - cadran gradué de |
| $F_2$ - porte-filtre vide | 0 à 100. |

Nous avons attribué arbitrairement la valeur 50 à la lumière transmise dans ces conditions par la solution standard préparée selon le procédé décrit plus haut. Cette solution standard s'étant avérée peu stable, elle doit être préparée immédiatement avant l'emploi.

Résultats.

Nous avons déterminé l'indice chylomicronémique d'un certain nombre de sérums de sujets normaux à jeun, indemnes d'atteintes hépatique ou rénale. Sur 46 sérums, la détermination de l'I.C. conduit à des valeurs relativement constantes, puisque nous trouvons en moyenne 10, avec une déviation standard de $\pm$ 3,0.

La figure 3 montre cependant que notre moyenne est légèrement faussée par la présence de cas relativement peu élevés, mais supérieurs à 13 unités.

Sur 56 sérums, nous avons comparé le taux des lipides totaux dosés par la technique de DELSAL à cet indice. Les résultats sont inscrits sur le graphique 4 et montrent qu'il n'existe qu'une corrélation grossière entre ces deux résultats. On rencontre en effet assez fréquemment des sérums où, malgré une valeur normale, voire même faible, des lipides totaux, l'indice des chylomicrons est légèrement élevé. Deux explications permettent d'interpréter ces faits :

- l'absorption d'eau, même le fait de fumer, peut, en déclenchant une faible activité péristaltique, libérer dans les chylifères, les chylomicrons provenant d'un repas pris la veille.

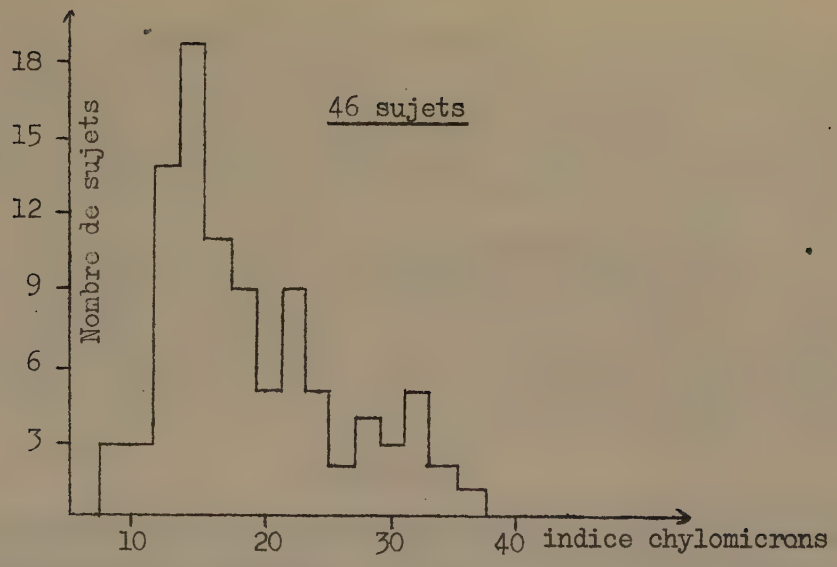



Figure 3

Indice chylomicronémique de sérums
de sujets normaux et à jeun

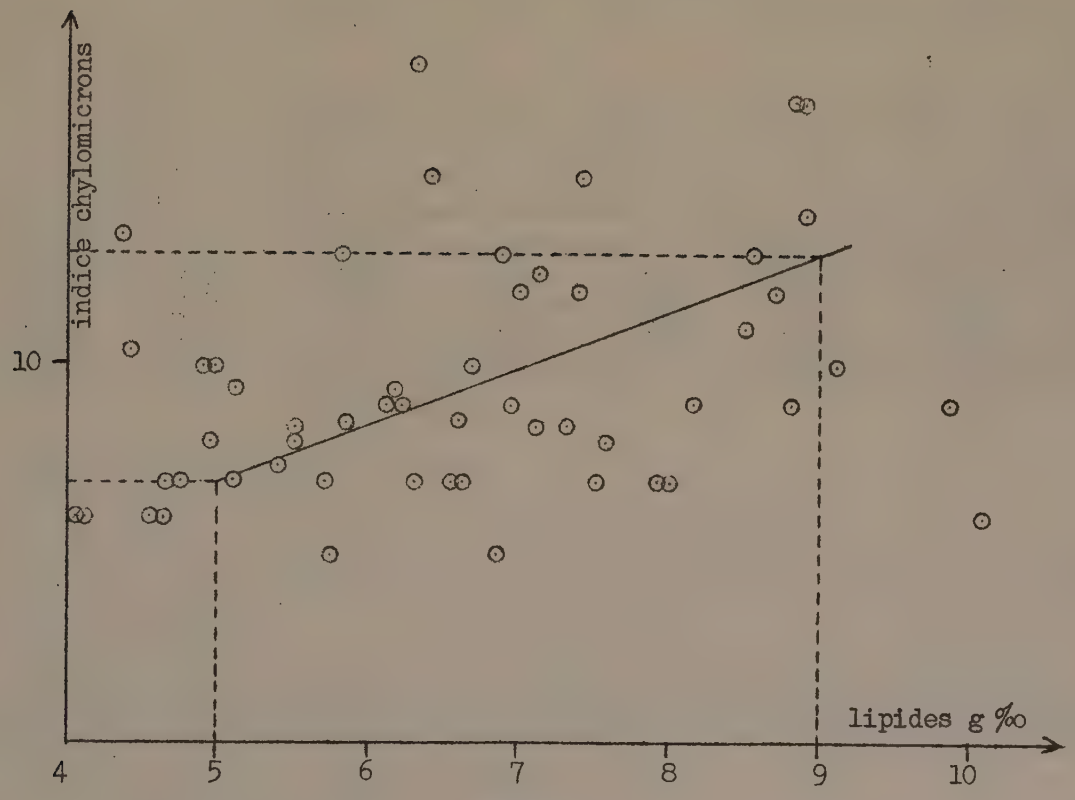



Figure 4

Comparaison entre l'indice chylomicronémique
et les lipides totaux

- certains sujets présentent une chylomicronémie durable, d'origine alimentaire, après absorption d'aliments gras et il est possible que la période de jeûne de 15 heures préconisée avant la prise de sang soit, dans ces cas, beaucoup trop courte. On retrouvera ce fait dans l'explication de certains cas pathologiques que nous étudierons dans la deuxième partie de cette thèse.

Nous avons également effectué la comparaison de l'I.C. obtenu par les mesures de diffusion de la lumière et du comptage des chylomicrons au microscope à contraste de phase sur des sérums prélevés au cours de deux épreuves d'hyperlipémie. Les résultats obtenus (tableau IV) nous montrent que ces valeurs sont superposables.

Tableau IV

Dosage des chylomicrons après administration de 100 g d'huile d'arachide

Comparaison entre la mesure de l'indice chylomicronémique par diffusion de la lumière et le comptage direct (nombre de particules/champ)

| | A jeun | | 1 heure | | 2 heures | | 3 heures | | 4 heures | | 6 heures | | 8 heures | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Cas n° 1 | 19 | 29 | 42 | 190 | 240 | 400 | 310 | 740 | 360 | 820 | 400 | 820 | 130 | 58 |
| Cas n° 2 | 12 | 21 | 32 | 37 | 85 | 90 | 120 | 740 | 260 | 740 | 295 | 1140 | 62 | 85 |
| | I.C. | Comptage direct | I.C. | Comptage direct | I.C. | Comptage direct | I.C. | Comptage direct | I.C. | Comptage direct | I.C. | Comptage direct | I.C. | Comptage direct |

- - -

## III - LES LIPOPROTEINES.

Les lipides, substances hydrophobes, ne sont solubles dans le plasma, solution aqueuse, que liés aux protéines (113, 248). Ces dernières conditionnent leur solubilité dans le sérum (124, 191, 211, 217-218, 319-320). A cette association complexe, MACHEBOEUF propose le nom de "cénapse", union par des forces connues ou inconnues de deux ou plusieurs constituants de la nature vivante, union modifiant certaines propriétés des constituants.

Les lipoprotéines sont formées d'une protéine sur laquelle se fixent des phospholipides; la fraction lipophile des phospholipides maintient en solution dans le sérum le cholestérol ainsi que les graisses neutres et les autres substances lipoïdiques (83, 154, 185, 319).

D'origine exogène - apport alimentaire (quantité et qualité des lipides ingérés) - et endogène - mobilité des réserves lipidiques de l'organisme - elles jouent un rôle très important dans le transport des acides gras endogènes et leur détermination durant la période postprandiale, a permis l'étude du transport des lipides ingérés (269), ces derniers entrant dans le cycle métabolique pour des Sf compris entre 400 et 10 avant d'être métabolisés et transformés vers des Sf de classes de flottation plus faibles (232).

L'isolement des différentes lipoprotéines et l'étude de leurs caractères physico-chimiques (214, 216) ont été parachevés par leur fractionnement sérique réalisé par COHN et ses collaborateurs (159, 250-251), fractionnement qui aboutit à deux complexes totalement différents: les alpha et les béta lipoprotéines. Caractéristiques d'une espèce donnée, variables d'une espèce à l'autre, les lipoprotéines représentent des fractions très proches les unes des autres, quoique non identiques. Leurs propriétés physico-chimiques distinctes et leur métabolisme en font un groupe distinct de molécules.

### Isolement des lipoprotéines.

1°) Méthodes anciennes de précipitation :

- Méthode au relargage (222, 278), qui n'aboutit qu'à des fractions impures.

- Procédé à l'alcool utilisé dans l'étude de cas normaux et pathologiques (20, 210), rendu difficile par la grande sensibilité des protéines conjuguées à l'alcool et aux basses températures (89).

2°) Electrophorèse :

soit libre (31, 325), soit de zone (118, 192-193), qui a mis en évidence les deux classes de lipoprotéines (72) différant par leur poids moléculaire, leur mobilité électrique, leur densité,

leur chimie, teneur en protides, rapport cholestérol/phospholipides et leur spécificité immunologique. Un coefficient lipoprotéique établi par GROULADE (157) a permis d'exprimer les fractions électrophorétiques en valeur absolue.

3°) L'ultracentrifugation :

et l'utilisation de milieux à gradients de densité (97,149-152, 163, 169, 215, 252). Associée à la détermination du coefficient de flottation, cette méthode a permis la séparation des lipoprotéines du sérum en trois principales fractions :

- les lipoprotéines de forte densité, d > 1,063, assimilées aux $\alpha$-lipoprotéines par leurs propriétés électrophorétiques. Elles flottent à une densité égale à 1,21. Solubles dans l'eau, elles contiennent environ 50 % de protéines, 25 % de phospholipides, 20 % de cholestérol surtout estérifié et moins de 10 % de triglycérides (64). Elles contiennent également une faible proportion d'acides gras non estérifiés. Elles représentent enfin le stade posthépatique du métabolisme des lipides.

- les lipoprotéines de faible densité, d < 1,063, assimilables aux $\beta$-lipoprotéines par leurs propriétés électrophorétiques. Elles forment un groupe dispersé, dépourvu d'homogénéité. Le taux de flottation a permis de les subdiviser en différents groupes (215) :

.ceux dont le Sf est de 0 à 10 et la densité moyenne de 1,035,

.ceux dont le Sf est de 10 à 20 et la densité moyenne de 1,019-1,006,

.ceux dont le Sf est de 20 à 400 et la densité moyenne de 0,98.

Elles contiennent environ 75 % des lipides et sont caractérisées par une augmentation du pourcentage des glycérides et une diminution des phospholipides, du cholestérol, des protéines et de leur densité. Le rapport cholestérol/phospholipides est ici supérieur à l'unité. Le quart des acides gras est réparti dans les triglycérides, le reste dans le cholestérol et les phospholipides (64). Selon RAYNAUD, elles représenteraient le stade préhépatique du métabolisme des lipides. Très solubles, de forme sphérique (250) ou ellipsoïdale, les deux formes pouvant coexister (25, 264) elles constituent des macromolécules et renferment de 40 à 60 % de stérols et stérides, 15 à 23 % de phosphatides et 24 à 37 % de glycérides. Le rapport lipides/protéines est de 4/1. Elles ne renferment donc que peu de protéines, le protéinogramme ne montrant que peu de modifications (état normal, néphrose lipoïdique).

- les chylomicrons, dont nous avons parlé précédemment.

Tableau V

Composition des lipoprotéines sériques

| Densité | Protéines | Triglycérides | Phospholipides | Cholestérol | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | libre | estérifié |
| Chylomicrons | 2,5 | 81 | 7 | 3 | 6 |
| < 1,006 | 7 | 54 | 17 | 16 | 17 |
| 1,006-1,019 | 15 | 35 | 18 | 6,5 | 26 |
| 1,019-1,063 | 21 | 7 | 24 | 2 | 40 |
| 1,063-1,210 | 47 | 6 | 27 | 2 | 18 |

4°) Techniques récentes de précipitation spécifique :

Basées sur la formation de complexes insolubles entre les lipoprotéines et les polysaccharides acides (74), complexes se formant à pH neutre et en absence de solvants organiques, ces méthodes constituent des procédés turbidimétriques quantitatifs et ont permis l'étude de nombreux cas d'hyperlipémie et d'hypercholestérolémie (3, 6, 19, 23, 26, 59, 77, 79, 96, 194, 263,337, 340). Il en est de même pour les complexes que forment la polyvinylpyrrolidone et les lipoprotéines (75).

Aisément comparables aux tests au phénol (190) et au thymol, ces méthodes de précipitation ne constituent pas des réactions spécifiques des lipoprotéines. Il en va différemment pour le test de BURSTEIN, adapté par BADIN et SCHMITT (15) et que nous avons utilisé. Ce test est basé sur la précipitation sélective des lipoprotéines légères en présence de cations bivalents (74). Cette précipitation est sélective, sans dénaturation instantanée et spécifique des béta-lipoprotéines (72). D'autres substances ont été utilisées, notamment les héparinoïdes de synthèse tels que le sulfate de dextrane et le tréburon (73, 270). En présence d'une certaine concentration de sulfate de dextrane et de chlorure de calcium, les lipoprotéines sont insolubilisées et leur précipitation est immédiate (78). Il semble qu'il y ait formation d'un complexe lipoprotéine/sulfate de dextrane/chlorure de calcium. Seule une relation lipoprotéines/lipides a pu être mise en évidence dans ces réactions (76).

Citons enfin des méthodes de détermination qualitative des lipoprotéines, faisant appel au bleu de toluidine (196) ou au sulfate de protamine (197) mais qui ont été fortement controversées.

TRAVAUX PERSONNELS.

C'est la méthode de BURSTEIN, au sulfate de dextrane que nous avons utilisée.

Dans un tube à essai, on mélange :

Solution de sulfate de dextrane ..... 8,0 ml
Sérum ..... 0,2 ml
Solution calcique ..... 0,8 ml

Après agitation, on laisse reposer 30 minutes, on agite à nouveau et on lit au photomètre à 650 mμ contre de l'eau distillée.

Les réactifs utilisés sont d'une part une solution de sulfate de dextrane à 0,2 % dans l'eau distillée, d'autre part une solution calcique à 11,1 g de chlorure de calcium anhydre ou 15 g de chlorure de calcium, 2 $H_2O$ dans l'eau distillée.

On effectue au préalable un étalonnage réalisé de la manière suivante : sur différents sérums, si possible riches en bétalipoprotéines, on précipite ces derniers en mélangeant :

Solution de sulfate de dextrane ..... 20 ml
Sérum étalon ..... 2 ml
Solution calcique ..... 8 ml

On mélange et on centrifuge 10 minutes à 3.000 tours/minute, après 15 minutes de repos. La décantation de la solution surnageante laisse un précipité qui est lavé à l'eau distillée. Après addition de 15 ml d'un mélange méthylal (4 parties) méthanol (1 partie), on agite fortement à la baguette et on laisse 10 minutes en contact. On filtre la solution. Le filtrat et le tube sont lavés avec le mélange extractif. On recueille la solution et les liquides de lavage dans un pèse-filtre taré. L'évaporation du solvant permet la pesée du résidu. On rapporte à un litre de sérum, d'où le poids p .

Tableau VI

Dosage des β-lipoprotéines

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Solution de sulfate de dextrane | 8,2 | 8,1 | 8,0 | 7,9 | 7,8 | 7,6 |
| Sérum étalon ..... | 0 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,6 |
| Solution calcique ..... | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 | 0,8 |

On lit à 650 mμ après 30 minutes. Chaque tube correspond respectivement à : 0 , p/2 , p , 3p/2 , 2p et 3p , exprimé en grammes %o de lipoprotéines ce qui permet d'établir la courbe d'étalonnage (figure 5).

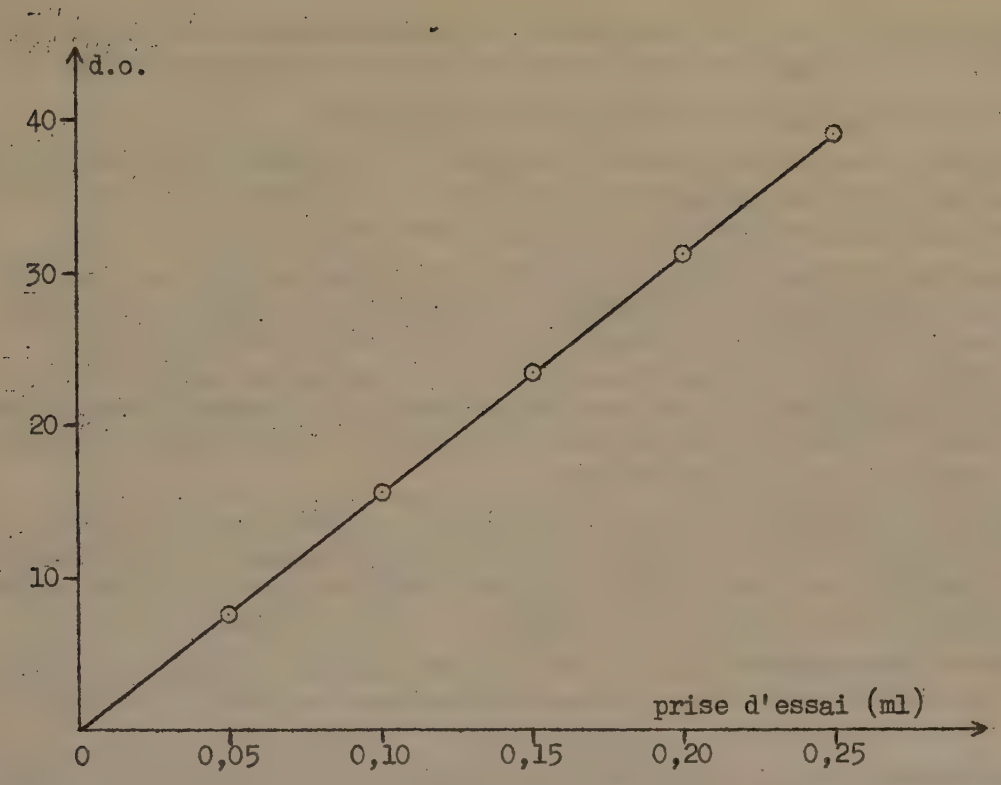



Figure 5

Dosage des β-lipoprotéines par la méthode de BURSTEIN

## IV - LE CHOLESTEROL.

Le cholestérol, chez les êtres vivants possède une double origine (231) :

- exogène, faible, les stérols se rencontrent autant dans les aliments d'origine animale que végétale.

- endogène, le foie joue un rôle prépondérant.

Le cholestérol est l'un des constituants lipidiques les plus importants tant par le rôle qu'il joue dans l'organisme que par les variations pathologiques qu'il présente dans le sérum. Cependant il n'entre pas dans notre propos de décrire ici le métabolisme et les anomalies du cholestérol. Signalons pourtant que certaines épreuves d'hyperlipémie ont été effectuées avec ce stérol. Ces épreuves différaient par son mode d'administration :

- soit sous forme de graisses, les stérols, dans le cas des graisses végétales, n'étant pas ou peu absorbés,

- soit sous forme d'un repas gras, tout repas gras contenant une certaine quantité de cholestérol; c'est ainsi que 100 g de

beurre contiennent 76 mg de cholestérol. Mais selon certains auteurs (99, 327), l'alimentation mixte ne donnerait aucun résultat,

- soit par utilisation directe du cholestérol.

Nous avons, pour notre part, utilisé le premier procédé, impliquant l'absorption de quantités variables de graisses, parfois contenant de faibles proportions de cholestérol.

Le dosage du cholestérol, au cours de diverses épreuves, a été fait selon la méthode de PEARSON (255), basée sur la coloration verte fournie par le cholestérol en présence d'anhydride acétique et d'une solution acétique d'acide para-toluène-sulfonique qui évite la précipitation des protéines. On opère à une longueur d'onde de 550 mμ, la coloration produite étant très instable à une longueur d'onde supérieure.

Les réactifs utilisés sont l'anhydride acétique, l'acide sulfurique, une solution acétique d'acide para-toluène-sulfonique à 12 % dans l'acide acétique cristallisé, enfin une solution étalon de cholestérol acétique à 400 mg % .

La réaction nécessite 0,2 ml de sérum auquel on ajoute 1 ml de la solution d'acide para-toluène-sulfonique et 5 ml d'anhydride acétique.

Après un repos de 10 minutes, on ajoute 0,5 ml d'acide sulfurique et on mélange aussitôt pour éviter la non dissolution du précipité. On laisse reposer 25 à 45 minutes à l'obscurité et à température ordinaire. On lit ensuite à 550 mμ contre de l'eau ou un blanc des réactifs obtenus dans les mêmes conditions avec 0,2 ml d'eau distillée. On prépare simultanément un blanc de sérum par mélange de 0,2 ml de sérum et 6,5 ml de la solution d'acide para-toluène-sulfonique.

Les résultats sont exprimés en fonction d'une courbe d'étalonnage qui est une droite obtenue dans les mêmes conditions que précédemment avec des quantités décroissantes d'une solution de cholestérol étalon.

## V - LES ACIDES GRAS LIBRES.

La chromatographie sur colonne de $SiO_2$, puis en phase gazeuse a permis récemment la caractérisation d'acides gras saturés de $C_{10}$ à $C_{18}$ parmi lesquels les acides palmitique, oléique et linoléique (106). KELSEY et LANGENECKER (182) avaient déjà montré auparavant la présence de ces acides gras, ainsi que de faibles quantités d'acides stéarique, myristique et arachidique. COHN (89) et d'autres auteurs signalent leur liaison avec la fraction albumine, ce qui, dans les différentes méthodes de dosage, implique une extraction par les solvants organiques pour séparer ces acides d'autres acides titrables (lactates et acides gras à courte chaîne).

Origine des acides gras.

Elle est triple :

- d'une part le chyle, pendant les périodes d'absorption (56, 140), ou la lymphe (123) où a été trouvée une catégorie d'acides gras à chaîne courte.

- les triglycérides du plasma, par hydrolyse, soit in vitro (187, 276, 303), soit in vivo (162, 310). L'absorption d'un repas gras (156, 310), l'injection d'émulsions lipidiques artificielles (156, 233) augmentent le taux de ces acides gras.

- le tissu adipeux contenant des acides gras libres endogènes par opposition à ceux provenant de la dégradation des graisses durant la lipémie alimentaire.

De nombreux travaux ont permis l'étude des échanges des acides gras libres entre le plasma et les tissus (138), des fonctions essentielles de ces acides gras surtout dans le transport des graisses, de leur pouvoir énergétique (153), enfin de la régulation de leur métabolisme par les agents hormonaux et de leurs relations avec les autres groupes biochimiques, dont les hydrates de carbone (281).

Détermination des acides gras libres.

Ils sont déterminés par titrage acidimétrique après extraction du sérum. Cette extraction doit être sélective, quantitative, éliminer les autres acides titrables, dont l'acide lactique produit au cours des efforts physiques, sous l'effet de stress ou dans le diabète.

Outre les méthodes de DAVIS, de SOMOGYI (309) et les modifications apportées par TRAUT et ESTES (326), deux méthodes sont utilisées couramment :

- la méthode de GORDON (153), permettant le dosage des acides stéarique, palmitique et oléique et qui ne subit pas l'influence d'autres acides titrables du plasma. La normale donnée par cette méthode est de 0,5 mEq par litre;

- la méthode de DOLE (108) dont nous nous sommes inspirés, peu spécifique, l'élimination des composés titrables autres que les acides gras n'étant pas complète. Les résultats donnés par cette méthode seront supérieurs à ceux donnés par GORDON.

Technique.

Le dosage des acides gras libres par la méthode de DOLE se fait sur 1 ml de plasma, provenant de la centrifugation immédiate du sang prélevé sur 0,5 ml d'héparine. Après addition de 5 ml de la solution extractive, on agite et on laisse reposer 10 minutes ou plus. On réalise ensuite une séparation en deux phases par adjonction de 2 ml d'heptane et de 3 ml d'eau distillée. On prend une prise d'essai de 3 ml de la phase supérieure (le volume du surnageant s'est révélé relativement constant, de ce fait ces 3 ml

correspondent à 2,6 ml de solvant organique) et on transfère dans un tube conique contenant l'indicateur. On titre par la soude jusqu'à disparition de la coloration jaune et apparition d'un reflet bleuté dans la solution. On opère sous azote de manière à éliminer le gaz carbonique qui se forme et à réaliser l'homogénéisation de la solution. Le titrage se fait à l'aide d'une micro-burette en utilisant comme témoin 1 ml d'eau distillée et les mêmes réactifs.

Les réactifs utilisés au cours de ce dosage sont :

- une solution extractive, mélange d'alcool isopropylique (40 ml), d'heptane (10 ml) et d'acide sulfurique N (1 ml) ;

- un indicateur, solution de bleu de thymol à 0,01 % dans l'alcool à 90°. Cet indicateur se prépare par dilution (dans 9 ml d'alcool absolu), de 1 ml de solution mère à 10 mg de bleu de thymol dans 10 ml d'eau distillée. Cet indicateur se révélant trop sensible nous avons, après des essais avec la phénolphtaléine, dont le virage lent est plus difficile à saisir, apporté une modification à la préparation de l'indicateur initial : 1 ml de la solution mère (mélange de 10 mg de bleu de thymol, de 1 ml d'eau distillée et de 9 ml d'alcool absolu redistillé) est dilué, pour la solution de titrage, 50 fois dans l'alcool à 90° ;

- une solution de titrage à base de NaOH environ 0,018 N. On prépare une solution saturée de NaOH (107 g/100 ml d'eau distillée) à conserver à la glacière. On prend 1 ml de cette solution et on complète à 1000 ml avec de l'eau distillée. On titre par HCl N/10; 5 ml de NaOH diluée correspondent environ à 0,7 ml de HCl N/10.

Résultats.

Nous trouvons, chez des sujets normaux et à jeun des valeurs comprises entre 0,5 et 0,7 mEq d'acides gras libres par litre de sérum, valeurs qui correspondent à celles obtenues par DOLE.

---

# D E U X I E M E  P A R T I E

## ETUDE EXPERIMENTALE DE L'HYPERLIPEMIE CHEZ LES SUJETS NORMAUX OU PATHOLOGIQUES

- - -

# D E U X I E M E  P A R T I E

## Chapitre premier

## SUJETS NORMAUX

Toutes nos épreuves d'hyperlipémie provoquée ont été réalisées à l'Hôpital Psychiatrique de Rouffach (Haut-Rhin). Nous remercions le Docteur LANTER qui nous a permis de mener à bien nos expériences, tant par le choix judicieux des sujets retenus que par les conseils prodigués dans l'interprétation de nos expériences.

Nous avons utilisé, au cours de ces expériences, des quantités d'huile de 50 et 100 g . Le nombre d'épreuves réalisées pour chaque huile est fonction des résultats obtenus, soit que ces derniers permettent une appréciation très rapide de l'absorption et de l'élimination de la graisse, comme ce fut le cas des huiles d'arachide et de maïs, soit que le manque d'homogénéité dans les résultats obtenus ou l'intérêt particulier de l'épreuve nous aient obligé à répéter les expériences, dans le cas de l'huile de coco en particulier.

La veille de l'épreuve, un examen médical complet et l'étude de diverses analyses biologiques faites sur les malades lors de leur prise en charge par l'hôpital nous permettaient d'éliminer tous ceux qui présentaient une atteinte digestive ou hépatique. Seuls ont été retenus les sujets en parfaite santé et il ne semble pas, sur l'ensemble des résultats exprimés, que les troubles mentaux dont souffraient ces malades aient pu se répercuter, de quelque manière que ce soit, sur les courbes d'hyperlipémie.

Maintenus à jeun quinze heures avant, les sujets le restaient pendant toute la durée des épreuves. De rares cas d'intolérance digestive sont à signaler; à chaque fois, les prises de sang furent arrêtées et nous ne présenterons ici que les résultats obtenus chez des sujets qui ont parfaitement supporté l'épreuve.

### 1°) Généralités sur les huiles utilisées et la technique d'épreuve.

#### a) La technique d'épreuve :

Toutes ces huiles ont été administrées sous forme d'émulsion, aromatisée par 40 g de sirop de framboises, à raison de 60 g d'eau pour 100 g d'huile. Au jeûne depuis la veille de l'épreuve, le sujet, après un premier prélèvement permettant la détermination du taux de base des divers constituants lipidiques, absorbe l'émulsion. Différents prélèvements à des intervalles de temps définis (30 minutes, une, deux, trois, cinq et sept heures), permettent l'étude des variations de chacune de ces fractions.

Pendant toute la durée de l'épreuve, les sujets sont maintenus à jeun ou au régime de KEMPNER, dans les expériences d'hyperlipémie réalisées sur des malades notamment.

Le dosage des lipides totaux, des chylomicrons, des β-lipoprotéines, du cholestérol, des phospholipides et des acides gras libres que nous venons d'étudier dans les chapitres précédents, nous a permis d'apprécier, au cours de l'épreuve, les variations de ces fractions en fonction de la nature et de la quantité de graisse ingérée d'une part, des heures de prélèvement d'autre part.

b) Les huiles utilisées :

Nous avons effectué nos épreuves en utilisant des quantités variables (50 et 100 g) de différentes huiles naturelles. Une étude parallèle utilisant des graisses marquées a été faite dans les laboratoires de la Clinique Médicale A par WERYHA (342). Les huiles utilisées diffèrent entre elles par leur teneur en acides gras saturés et non saturés. La graisse de référence est le beurre pasteurisé livré par les laiteries coopératives du département de la Manche et dont les caractéristiques sont :

- sur le beurre entier :

| | |
|---|---|
| humidité ..... | 14,7 % |
| sels ..... | 0,01 % |
| matières non grasses ..... | 0,52 % |

- sur la phase grasse seule :

| | |
|---|---|
| acidité oléique ..... | 0,33 % |
| indice de saponification ... | 210 |
| indice d'iode ..... | 36,7 |
| point de fusion ..... | 37,2 |

- la teneur en phosphatides est de 1,4 % .

Répartition en pourcentage des acides gras du beurre :

| Acides gras saturés | | Acides gras non saturés | | Totaux | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | saturés | non saturés |
| $C_4$ | 3 | | | 56 | 44 |
| $C_6$ | 1 | | | | |
| $C_8$ | 1 | | | | |
| $C_{10}$ | 2 | $C_{10}$ | 0,1 | | |
| $C_{12}$ | 3 | $C_{12}$ | 0,2 | | |
| $C_{14}$ | 10 | $C_{14}$ | 1 | | |
| $C_{16}$ | 24 | $C_{16}$ | 3 | | |
| $C_{18}$ | 11 | $C_{18}$- | 34 | | |
| | | $C_{18}$= | 4 | | |
| | | $C_{18}$= | 0,5 | | |
| $C_{20-24}$ | 1 | $C_{20-22}$ | 1 | | |

Les différentes graisses utilisées comparativement au beurre sont :

- l'huile de coco raffinée dont l'indice de saponification est élevé (256-265), car elle renferme des quantités importantes d'acide laurique (45 à 48 %), d'acide myristique (15 à 20 %) et d'acides gras supérieurs (15 à 20 %). Cette graisse est cependant très pauvre en phosphatides.

| Acides gras saturés | | Acides gras non saturés | | Totaux | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | saturés | non saturés |
| $C_6$ | 1 | | | 92 | 8 |
| $C_8$ | 8 | | | | |
| $C_{10}$ | 7 | | | | |
| $C_{12}$ | 48 | | | | |
| $C_{14}$ | 17 | | | | |
| $C_{16}$ | 9 | | | | |
| $C_{18}$ | 2 | $C_{18}$- | 6 | | |
| | | $C_{18}$= | 2 | | |

- l'huile de palmiste a une composition très voisine de la précédente.

- l'huile d'arachide dont la teneur en acides gras est variable :

| | |
|---|---|
| acide laurique | 0 à 1 % |
| acide myristique | 0 à 0,4 % |
| acide palmitique | 8 à 10 % |
| acide stéarique | 2 à 6 % |
| acide oléique | 50 à 60 % |
| acide linoléique | 18 à 24 % |
| acide arachidique | 1 à 4 % |
| acides gras supérieurs saturés et non saturés | 1 à 4 % |

Sa teneur en phosphatides est voisine de 0,3 à 0,4 % .

| Acides gras saturés | | Acides gras non saturés | | Totaux | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | saturés | non saturés |
| $C_{16}$ | 8 | $C_{16}$ | 1 | 17 | 83 |
| $C_{18}$ | 3 | $C_{18}$- | 64 | | |
| | | $C_{18}$= | 18 | | |
| $C_{20-24}$ | 6 | | | | |

- l'huile d'arachide hydrogénée est formée de constituants glycériques non saturés (acide oléique et linoléique) transformables par hydrogénation en composés plus ou moins saturés. Le degré de saturation est fonction du degré d'hydrogénation. Cependant, pour des raisons diététiques, celle-ci est arrêtée après obtention d'un produit dont le point de fusion est compris entre 32 et 37°. Le passage des acides gras de la forme non saturée à la forme saturée se fait progressivement. L'acide linoléique à trois doubles liaisons donne naissance à l'acide linoléique, oléique et stéarique.

| | |
|---|---|
| indice de saponification ..... | 189 - 195 |
| indice d'iode ..... | 63 - 68 |
| point de fusion après stabilisation thermique prolongée ..... | 32 à 37° |

Cette huile présente de nombreuses possibilités d'isomérie, géométrique et stéréochimique.

- l'huile de maïs est fluide, son indice de saponification est de 188 à 193, l'indice d'iode de 111 à 130. Elle est constituée essentiellement de glycérides de l'acide oléique (40 à 45 %) et linoléique (38 à 46 %).

- l'huile de palme renferme, brute, des quantités importantes d'acides gras libres. Son indice de saponification est de 156 à 205, son indice d'iode de 48 - 60. Elle renferme des quantités élevées d'acide palmitique (34 à 42 %), d'acide linoléique (7 à 11 %) et oléique (40 à 50 %); son point de fusion est de 58°.

| Acides gras saturés | | Acides gras non saturés | | Totaux | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | saturés | non saturés |
| $C_{14}$ | 2 | | | 46 | 54 |
| $C_{16}$ | 40 | $C_{16}$ | 1 | | |
| $C_{18}$ | 4 | $C_{18}$- | 42 | | |
| | | $C_{18}$= | 10 | | |
| | | $C_{18}$= | 1 | | |

2°) Expression des résultats.

49 épreuves d'hyperlipémie provoquée ont été réalisées au cours de nos expériences. L'ensemble des résultats obtenus au cours de chaque épreuve a été groupé et la moyenne calculée reportée sur un graphique comportant en abscisse le dosage réalisé et en ordonnée les heures de prélèvement. Les points tracés permettent ainsi l'obtention de droites caractéristiques de chaque huile et la comparaison directe de l'absorption et de l'élimination de chacune d'elles.

3°) Résultats.

Les résultats obtenus avec 50 g de graisses sont consignés sur les figures 6 et 7 et le tableau VII mentionne l'augmentation de l'indice chylomicronémique ainsi que les taux des lipides et des β-lipoprotéines.

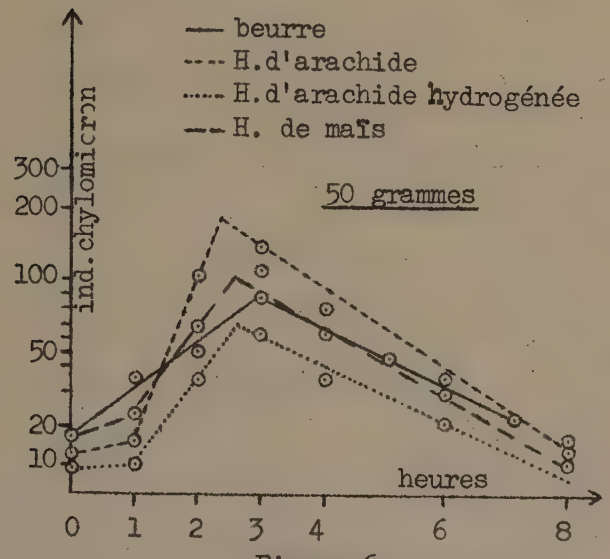



Figure 6

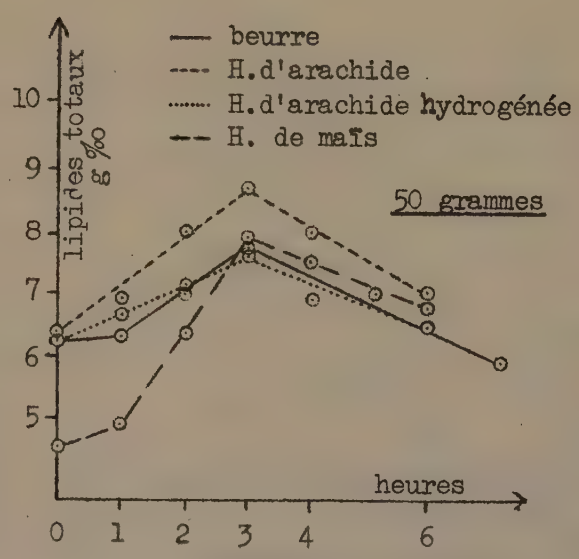



Figure 7

Tableau VII

Quantité d'huile administrée : 50 g

| Huiles utilisées | Nombre d'épreuves | Augmentation de l'indice des chylomicrons | | Augmentation du taux des β-lipoprotéines | | Augmentation du taux des lipides totaux | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Indice | Temps | Taux | Temps | Taux | Temps |
| Arachide hydrogénée | 3 | 43 | 3 | 0,9 | 3 | 1,29 | 3 |
| Beurre | 6 | 81 | 3 | 1,82 | 3 | 2,51 | 3 |
| Maïs | 3 | 123 | 2-3 | 1,34 | 3 | 2,3 | 3 |
| Arachide | 4 | 134 | 3 | 1,47 | 3 | 2,39 | 3 |

Les résultats obtenus avec 100 g de graisses sont consignés sur les figures 8 et 9 et le tableau VIII mentionne l'augmentation de l'indice chylomicronémique ainsi que les taux des lipides et des β-lipoprotéines.

Figure 8.

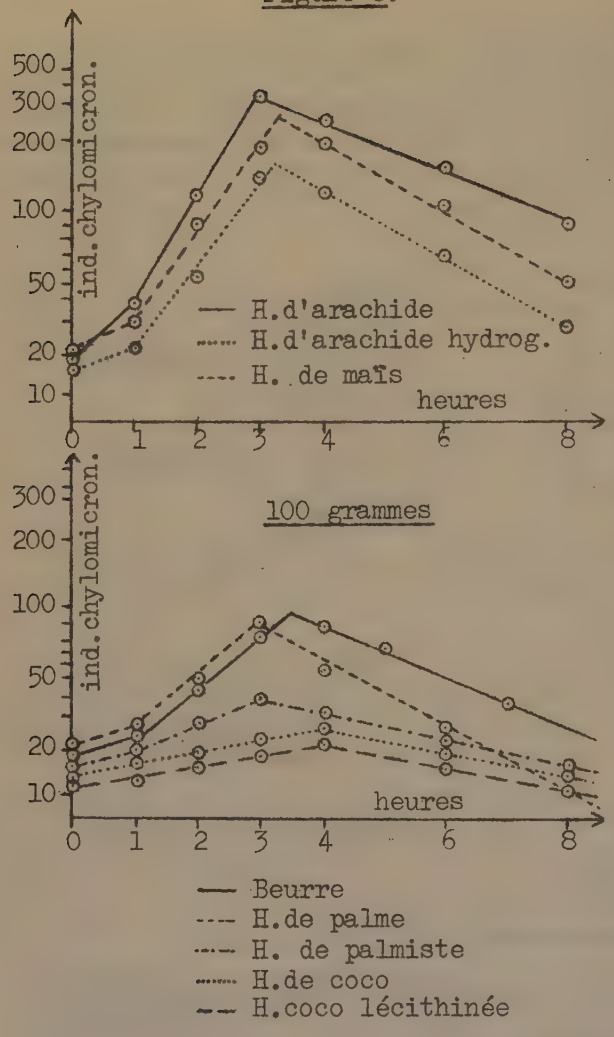



Figure 9.

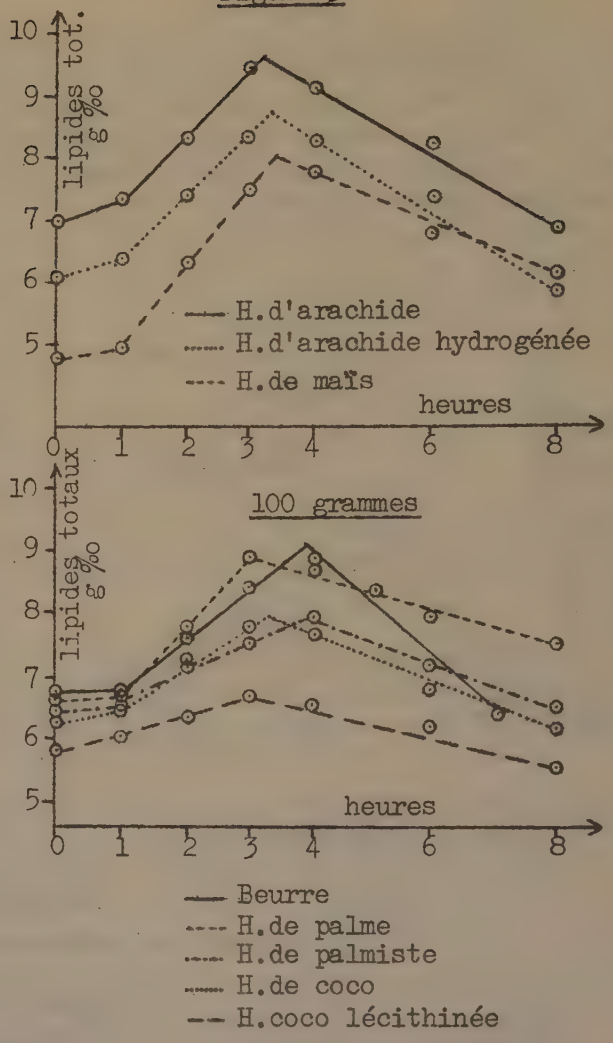



Tableau VIII

Quantité d'huile administrée : 100 g

| Huiles utilisées | Nombre d'épreuves | Augmentation de l'indice des chylomicrons | | Augmentation du taux des β-lipoprotéines | | Augmentation du taux des lipides totaux | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Indice | Temps | Taux | Temps | Taux | Temps |
| Coco lécithine | 5 | 17,2 | 4 | 1,39 | 4 | 0,8 | 4 |
| Palmiste | 3 | 26,6 | 3 | 0,57 | 4 | 1,11 | 4 |
| Coco | 6 | 27,6 | 4 | 0,76 | 4 | 1,77 | 4 |
| Palme | 4 | 106,1 | 3 | 1,38 | 3 | 2,52 | 3 |
| Arachide hydrogénée | 4 | 149 | 3 | 1,3 | 3 | 2,83 | 3 |
| Beurre | 5 | 162,1 | 4 | 1,94 | 4 | 3,03 | 5 |
| Maïs | 3 | 212 | 4 | 1,34 | 3 | 2,3 | 3 |
| Arachide | 3 | 257 | 3 | 2,71 | 3 | 3,75 | 3 |

4°) Discussion des résultats.

L'épreuve d'hyperlipémie provoquée

a) en fonction du temps :

L'absorption d'une quantité donnée d'une graisse déterminée et la lactescence plus ou moins importante et plus ou moins rapide du sérum constituent les principes essentiels de l'épreuve d'hyperlipémie provoquée. Lors de l'exposé de la technique, on a vu que les prélèvements étaient effectués à jeun, puis de la première à la huitième heure pour les sujets normaux. L'absorption maxima, pour l'ensemble des graisses étudiées et des fractions lipidiques dosées, est comprise entre la troisième et la quatrième heure. De toutes ces fractions, la chylomicronémie donne les résultats les plus concrets et permet de suivre facilement le métabolisme de chaque graisse.

Nos premières expériences font état d'un prélèvement effectué trente minutes après ingestion de l'émulsion. Les dosages ayant révélé une variation négligeable de la chylomicronémie et une augmentation modérée de toutes les autres fractions, nos expériences ultérieures ont été réalisées selon la technique décrite.

Si, dans le cas particulier de l'huile de coco, les variations de la chylomicronémie étaient également insignifiantes après trente minutes,elles ne s'élevaient que fort peu les heures suivantes,contrairement à toutes les autres huiles. Les autres fractions lipidiques se révélaient parallèles à la chylomicronémie et leur augmentation modérée les distinguait des autres huiles. Pour expliquer ce fait,une des premières hypothèses que nous avions émises était une absorption et une élimination sanguine extrêmement rapide. Des prélèvements effectués,dix,vingt et trente minutes après ingestion de l'émulsion ne nous ont pas permis de confirmer cette hypothèse.

Pour interpréter cette absence de chylomicrons, nous avions également pensé à une malabsorption intestinale de l'huile de coco. Une épreuve de transit lipidique, réalisée selon la technique préconisée par WARTER et MÉTAIS, ne devait pas non plus donner satisfaction.

A un sujet placé à un régime constant et pauvre en graisses pendant toute la durée de l'épreuve, nous avons fait absorber le matin à jeun une bouillie comprenant :

| | |
|---|---|
| Huile de coco ..... | 50 ml |
| $SO_4Ba$ (pulvobaryne) ..... | 130 g |
| Sels biliaires ..... | traces |
| Eau q.s.p. ..... | 150 ml |

L'huile est finement émulsionnée dans la suspension de $SO_4Ba$ .

24 à 48 heures après administration de l'émulsion, un échantillon des selles les plus blanches était recueilli et analysé. Toutes les conditions propres au bon déroulement de cette épreuve avaient été respectées (tableau IX).

Tableau IX

Dosage des graisses fécales

| | |
|---|---|
| Graisses neutres % ..... | 25,24 |
| Acides gras ..... | 52,69 |
| Savons ..... | 21,75 |
| Dosage du $SO_4Ba$ ..... | 0,6674 g |
| Coefficient d'utilisation digestive des graisses ..... | 90,2 |

Si nous tenons compte des résultats normaux pour les différents dosages, soit un coefficient d'utilisation digestive compris entre 90 et 100, une teneur en graisses neutres, acides gras et savons respectivement de 20, 40 et 40 %, nous voyons que les résultats sont normaux et comparables à ceux d'autres graisses, donc que l'huile de coco est parfaitement absorbée par un sujet normal. On doit imputer à d'autres mécanismes cette augmentation modérée des fractions lipidiques consécutive à l'administration d'huile de coco.

b) <u>en fonction de la quantité de graisses administrée</u> :

Des 49 épreuves d'hyperlipémie réalisées, 33 l'ont été avec 100 g , 16 avec 50 g de graisses. Le tracé des droites obtenues en faisant la moyenne des résultats se révèle sensiblement identique. Après administration de 50 g d'huile, les courbes sont un peu moins élevées. Cet abaissement n'est cependant pas directement proportionnel à la quantité de graisses administrée. Cette différence mise à part, la classification des graisses utilisées est à peu près identique pour les quantités de 50 et 100 g .

De l'ensemble des fractions lipidiques dosées, les lipides totaux, les chylomicrons et les $\beta$lipoprotéines nous ont permis de tirer le maximum de conclusions. Nous avons classé les graisses alimentaires en trois groupes suivant les courbes d'hyperlipémie obtenues :

- les graisses à hyperlipémie faible :

  Huile de coco lécithinée
  Huile de coco
  Huile de palmiste

- les graisses à hyperlipémie moyenne :

  Beurre
  Huile de palme

- les graisses à hyperlipémie forte :

  Huile d'olive
  Huile d'arachide
  Huile de maïs
  Huile d'arachide hydrogénée

Quelle que soit la quantité de graisse ingérée, nous n'avons jamais mis en évidence une augmentation notable du cholestérol dans la constitution de ces huiles, à l'exception du beurre, qui n'en contient cependant qu'à l'état de traces.

Quant aux phospholipides et aux acides gras libres, tous deux présentent une augmentation modérée, régulière et parallèle aux autres fractions lipidiques pour les acides gras, très irrégulière pour les phospholipides (tableau X).

Tableau X

| Huiles utilisées | Phospholipides g ‰ | | | | Acides gras non estérifiés en mEq/l | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Minima | Maxima | Δ | Temps | Minima | Maxima | Δ | Temps |
| Huile de coco | 2,18 | 2,85 | 0,67 | 3 | 0,45 | 0,93 | 0,48 | 3 |
| Huile de coco lécithinée | 1,8 | 2,25 | 0,45 | 2 | | | | |
| Huile de palme | 2 | 2,46 | 0,46 | 3 | 1,01 | 1,59 | 0,58 | 3 |
| Huile d'arachide hydrogénée | 2,34 | 2,72 | 0,38 | 3 | 0,28 | 0,6 | 0,32 | 4 |
| Huile de maïs | 1,9 | 2,23 | 0,33 | 4 | 0,54 | 1,24 | 0,7 | 4 |
| Huile d'arachide | 2,28 | 2,87 | 0,59 | 3 | 0,575 | 1 | 0,42 | 3 |

c) <u>en fonction de la qualité de la graisse ingérée</u> :

Nous avons cherché si la qualité de l'huile pouvait conditionner les variations observées au cours de nos expériences. Un certain nombre de critères permet de différencier les graisses alimentaires entre elles. Parmi ces critères, l'indice de saponification est d'autant plus élevé que les glycérides sont formés d'acides gras de plus faible poids moléculaire, fonction également, mais à un degré moindre, de la teneur en insaponifiable et en acides gras lourds. Ces fractions n'interviennent pas dans le cas des huiles que nous avons utilisées. L'indice d'iode est basé sur l'insaturation des acides gras. En comparant ces deux indices, on met en évidence un parallelisme entre l'indice de saponification et la classification que nous avons énoncée (figure 10), le degré d'hyperlipémie étant d'autant plus élevé que les acides gras sont plus longs. Il n'en est pas de même pour l'indice d'iode et aucun point de comparaison ne peut être relevé. Dans le cas des huile d'arachide et d'arachide hydrogénée que nous avons placées dans le même groupe, leur absorption et leur élimination sont identiques, légèrement inférieurs pour l'huile d'arachide hydrogénée, bien que leur composition soit bien différente. Ainsi le degré de saturation des

huiles utilisées ne joue pas de rôle essentiel dans l'aptitude de ces graisses à donner des chylomicrons. Au contraire, il semble que la taille des molécules d'acides gras mesurée par l'indice de saponification soit plus importante.

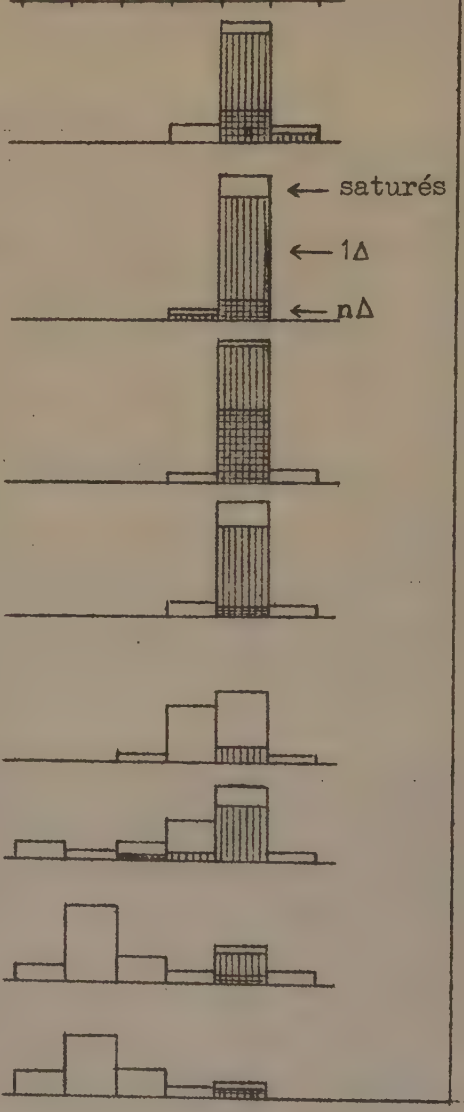
| | Indice de saponific. | Indice d'iode | Phosphatides | Composition en ac. gras |
|---|---|---|---|---|
| H. Arachide | 190 | 95 | 0,3 % |  |
| H. Olive | 191 | 84 | - | |
| H. Maïs | 190 | 120 | - | |
| H. Arachide hydrogénée | 192 | 65 | - | |
| H. Palme | 202 | 54 | - | |
| G. de Beurre | 210 | 37 | 1,4 | |
| H. Palmiste | 242 | 16 | traces | |
| H. Coco | 258 | 10 | traces | |



Figure 10.

Nous nous sommes aussi demandés si les phospholipides contenus en faible quantité et même à l'état de traces - beurre, huile de palmiste et huile de coco - ou inexistants - huile d'olive et huile de maïs - pouvaient éventuellement influencer l'absorption des lipides. Par leur fonction émulsifiante, par leur présence, en quantité plus ou moins importante, ils pourraient modifier les conditions d'absorption selon la graisse utilisée. Cette absence ou

cette faible teneur en phospholipides ont pu être palliées par le fait que toutes nos graisses ont été administrées sous forme d'émulsion selon la formule

| | |
|---|---|
| Huile | 100 g |
| Eau | 60 g |
| Sirop de framboise | 40 g |
| Tween | quelques gouttes |

Nous avons cependant réalisé quelques épreuves supplémentaires en utilisant l'huile de coco lécithinée. Celles-ci nous ont montré le rôle négligeable des phospholipides et aucune différence, tant pour la chylomicronémie que pour les lipides totaux, n'a pu être relevée entre les épreuves à l'huile de coco et celles à l'huile de coco additionnée de lécithine à 1 % .

Il semble donc que les phospholipides, dans nos conditions d'expérience, ne puissent expliquer les différences observées.

C'est finalement dans la composition d'acides gras de diverses huiles, dans la longueur des chaînes carbonées qu'il faut rechercher l'origine des variations. Si nous considérons le groupe des huiles à hyperlipémie faible, nous constatons une forte proportion d'acides gras en $C_{12}$, en $C_{10}$ et en acides gras inférieurs et une minorité d'acides gras supérieurs à $C_{12}$. Les expériences comparatives réalisées avec l'huile de palmiste, dont la composition est voisine de celle de l'huile de coco, ont donné des résultats identiques.

Dans le groupe des huiles à hyperlipémie forte, les acides gras inférieurs sont, par contre inexistants et ces huiles sont pratiquement constituées d'acides gras en $C_{18}$.

Si l'huile de palme et le beurre renferment également des acides gras en $C_{18}$, leur proportion est sensiblement inférieure à celle des huiles du groupe arachide. Cette composition et la présence de quantité notables d'acides gras en $C_{16}$ pour l'huile de palme et en $C_{16}$ et inférieurs pour le beurre permettent d'expliquer la position intermédiaire occupée par ces deux graisses.

Cette importance que nous donnons à la composition en acides gras des huiles utilisées, et qui est particulièrement mise en relief si nous comparons les huiles de coco et d'arachide, est à rapprocher de certaines propriétés des acides gras à chaînes courtes et en particulier de leur solubilité et de leur volatilité, base des indices de REICHERT - MEISSEL, de POLMSKE et de KIRCHNER. La théorie de FRAZER énonce d'ailleurs la double voie empruntée par les acides gras en fonction de la longueur de chaîne, la voie lymphatique pour les acides gras à longue chaîne, la voie portale pour les acides gras de poids moléculaire inférieur, la proportion d'acides gras empruntant cette dernière voie étant d'autant plus forte que la chaîne est plus courte, donc la solubilité plus grande.

Les différences dans les courbes d'hyperlipémie relèvent donc de ces propriétés particulières.

Les expériences réalisées nous ont permis de classer les graisses alimentaires en trois groupes selon l'importance de l'hyperlipémie qu'elles provoquent. Nous avons vu, par l'épreuve du transit lipidique, que l'on ne pouvait attribuer à une malabsorption le faible degré d'hyperlipémie donné par les huiles de coco et de palmiste. L'administration des huiles sous forme d'émulsion et les épreuves à l'huile de coco lécithinée ont montré le rôle peu important des phospholipides. En étudiant les indices de saponification et d'iode, nous avons démontré que le degré de saturation des acides gras ne pouvait expliquer les variations observées entre les diverses graisses. C'est donc à la longueur des chaînes carbonées, à la nature des acides gras qui les constituent que nous pouvons attribuer les variations de l'hyperlipémie en fonction de la graisse utilisée.

## Chapitre II

## LES HYPERLIPEMIES ANORMALES

Nous avons étudié dans la première partie de ce travail, l'hyperlipémie transitoire ou hyperlipémie postprandiale physiologique et, en utilisant diverses graisses, nous en avons fixé les normes et tracé la courbe standard chez le sujet normal (figure 11).

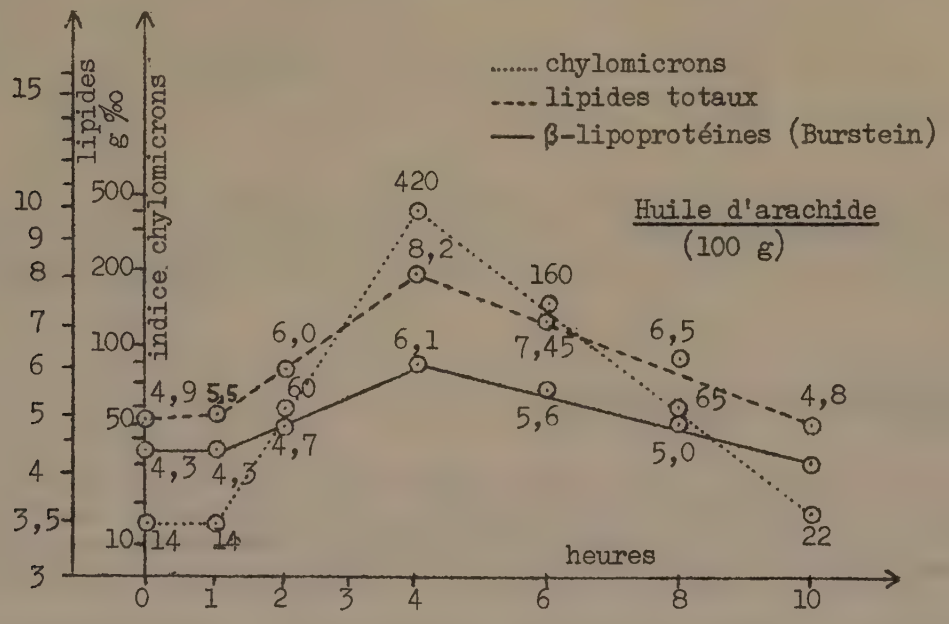



Figure 11

Tracé standard de l'épreuve d'hyperlipémie provoquée.

Certaines affections peuvent entraîner des troubles du métabolisme lipidique, à ses différents stades et, par là même, des modifications du tracé standard. Secondaire à différentes affections métaboliques liées à des troubles de l'apport alimentaire, de l'assimilation intestinale ou à des modifications du métabolisme général, l'épreuve d'hyperlipémie a été également exécutée dans des cas de diabète, d'athérosclérose. Dans le cadre de ces épreuves, l'hyperlipémie essentielle idiopathique est de même intéressante à étudier.

Nous avons donc constaté dans la deuxième partie de ce travail, les conséquences de ces affections métaboliques par l'épreuve de l'hyperlipémie provoquée, en les comparant aux résultats et aux courbes normales obtenus.

Toutes nos épreuves ont été réalisées sur des malades hospitalisés à l'exception d'un seul cas d'hyperlipémie essentielle dont l'observation a pu être faite grâce à la compréhension du Médecin-Colonel STEIGER que nous tenons à remercier pour l'amabilité dont il a fait preuve à notre égard.

Nous avons été amené au cours des diverses épreuves, à en modifier le déroulement, l'absorption et plus particulièrement l'assimilation étant, dans de nombreux cas, retardées. C'est ainsi que les prélèvements ont dû être effectués à la dixième, douzième, parfois même à la vingt-quatrième heure. Une seule huile, l'huile d'arachide, a été utilisée et cela, à la dose unique de 100 grammes. Les conditions de l'épreuve demeurent les mêmes que celles utilisées lors de l'étude de ces cas normaux, hormis le maintien des malades pendant toute la durée de l'épreuve au régime de KEMPNER.

Le dosage des chylomicrons, des β-lipoprotéines et des lipides totaux ont permis l'évaluation des perturbations liées aux affections étudiées et leur retentissement sur la courbe d'hyperlipémie.

- Expression des résultats.

Nous avons calculé pour chaque épreuve, un coefficient d'absorption et un coefficient d'utilisation. Pour établir ces différents coefficients, nous portons en abscisse les temps de prélèvement, en ordonnée les logarithmes des concentrations (figure 12).

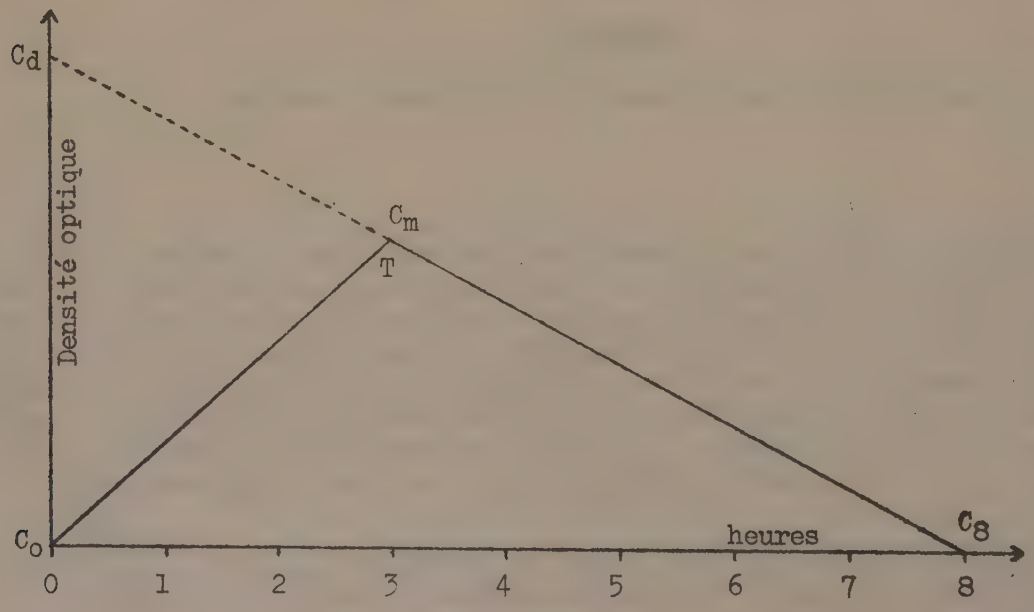



Figure 12.

Nous obtenons une première droite ascendante qui correspond à l'absorption intestinale de la substance étudiée, puis, à partir du temps T, une droite descendante qui traduit l'élimination ou l'utilisation de cette substance. La pente de la droite ascendante et le coefficient d'absorption traduisent la vitesse d'absorption de l'huile considérée.

Le coefficient d'absorption est donné par la formule

$$K = \frac{\log C_m - \log C_o}{T} \times 2,3$$

$C_m$ : concentration maxima
$C_o$ : concentration initiale

Ce coefficient n'a cependant qu'une valeur relative car il est l'expression d'une droite influencée par l'élimination. Celle-ci débute, en effet, dès les premières phases de l'absorption et tend à diminuer les concentrations sanguines de l'huile ingérée. Il est donc nécessaire, pour déterminer l'absorption véritable, de procéder à une correction à partir de la concentration $C_d$ ou concentration maxima possible au temps O, concentration qui serait réalisée si seule l'absorption intervenait. $C_d$ est obtenu en prolongeant la droite d'élimination jusqu'à l'axe des ordonnées. On obtient ainsi le coefficient d'absorption

$$K = \frac{\log C_d - \log C_o}{T} \times 2,3$$

2,3 représente le coefficient de transformation des logarithmes décimaux en logarithmes népériens.

Calculé à partir des épreuves d'hyperlipémie témoins effectuées, nous avons obtenu un coefficient d'absorption de $25 \pm 5 \cdot 10^{-3}$. Il en est de même pour le coefficient d'utilisation de la graisse que nous calculons selon la formule

$$K = \frac{\log C_d - \log C_8}{T} \times 2,3$$

$C_8$ représente la concentration sanguine de l'huile à la huitième heure. Calculé sur 56 sujets normaux, ce coefficient d'utilisation a pour valeur $15 \pm 5 \cdot 10^{-3}$, la concentration maxima de l'huile ingérée étant atteinte 2 à 3 heures après son absorption, l'élimination étant pratiquement faite à la huitième heure.

56 épreuves d'hyperlipémie provoquée ont été réalisées dans les services de la clinique Médicale A. Les résultats obtenus nous ont permis de les classer en trois catégories distinctes :

1°) La lipémie ainsi que les diverses fractions lipidiques ne subissent pas de modificatiions après ingestion de 100 grammes d'huile d'arachide.

2°) L'épreuve d'hyperlipémie provoquée présente un retard dans l'absorption ou l'élimination de la graisse ingérée ou une réduction dans l'intensité de l'absorption.

3°) Les hyperlipémies primitives ou essentielles.

## 1) - LES COURBES "PLATES"

Tableau XI

Diagnostics cliniques des sujets présentant des courbes "plates"

| | |
|---|---|
| Mi..., Bou... | Suspicion de néoplasme du pancréas |
| Ul..., Ai... | Cancer du pancréas et des voies biliaires |
| Bri..., Kirch... | Néoplasme des voies biliaires |
| Mu..., Béné..., Fu... | Ictère par rétention |
| Volck..., Sch... | Pancréatite chronique |
| Fu... | Diabète |
| Roth..., Ulr... | Lithiase pancréatique |
| Sch..., Roth... | Cirrhose biliaire décompensée avec ascite |
| Osw... | Leucémie lymphoïde |
| Fi... | Tuberculose intestinale. Péritonite plastique |
| Ulr... | Pseudo-Whipple |

Nous avons groupé dans cette première catégorie un ensemble d'affections dont les répercussions portent tant sur l'absorption que sur l'utilisation des graisses. Comparée à la courbe d'une épreuve d'hyperlipémie normale obtenue avec 100 grammes d'huile d'arachide (figure 11) nous n'obtenons ici qu'une droite horizontale (figure 13), montrant parfois une augmentation de faible intensité, plus rarement une élévation tardive.

Ce sont essentiellement les néoplasmes des voies biliaires, les cirrhoses, les pancréatites aiguës et chroniques et exceptionnellement un cas de diabète que nous rencontrons dans ce groupe.

D'autres affections, telle que la maladie de WHIPPLE ou la leucémie lymphoïde présentent un intérêt différent. Une atteinte des voies lymphatiques dans la leucémie lymphoïde, un défaut d'absorption (des expériences identiques ont été réalisées avec la vitamine A) et une atteinte de la muqueuse du grêle envahie par les graisses dans la maladie de WHIPPLE peuvent expliquer les troubles du métabolisme lipidique. Pour de nombreux auteurs, la maladie de WHIPPLE ne serait qu'une collagénose à retentissement intestinal secondaire. Des signes de polyarthrite, une atteinte ganglionnaire complètent le tableau clinique de stéatorrhée.

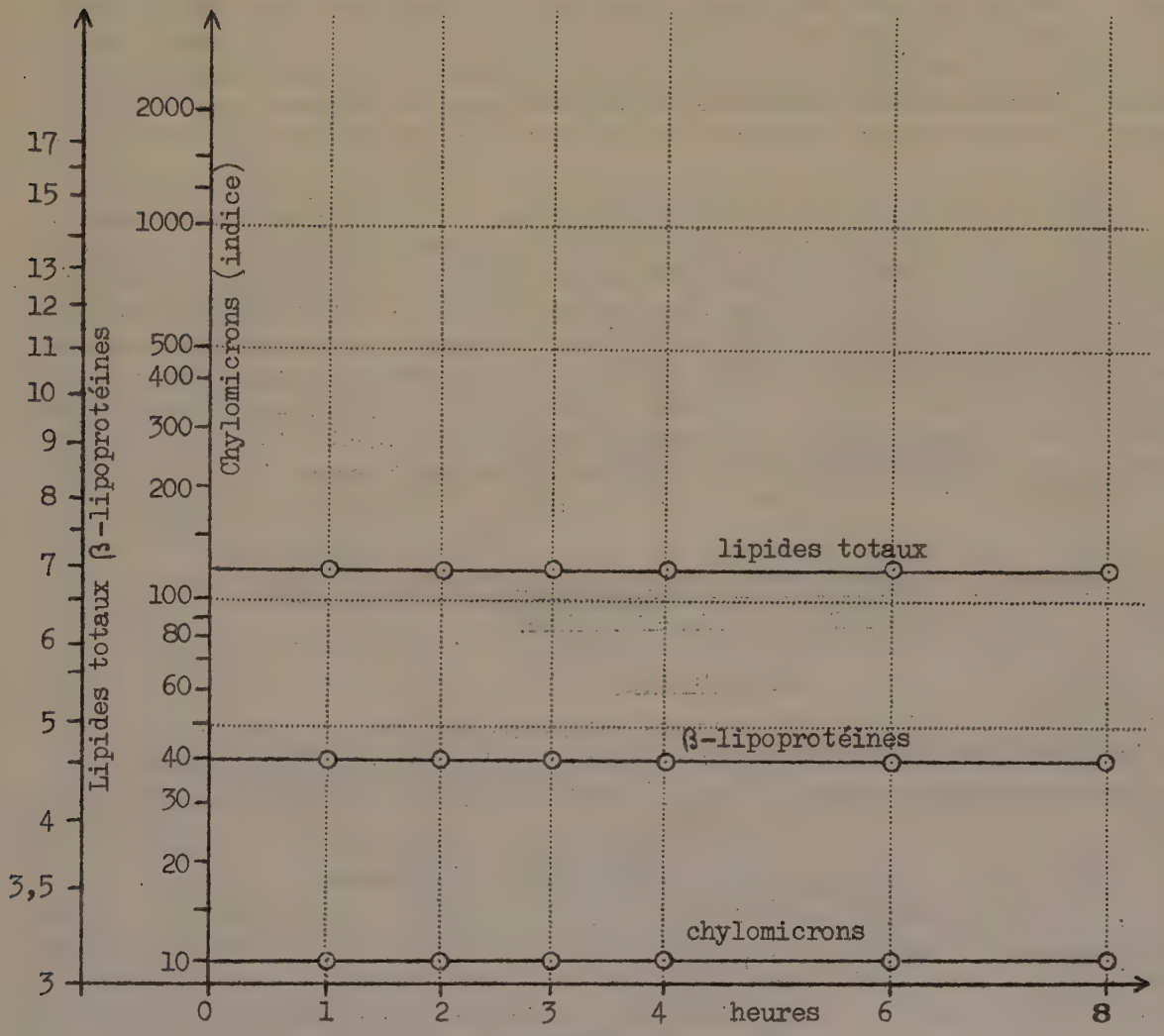



Figure 13.

Courbes d'hyperlipémie obtenues chez Fu... Louis :
diabète et ictère par rétention
exemple d'une "courbe plate".

Ce sont donc essentiellement dans les affections du pancréas et des voies biliaires, néoplasme, ictères, pancréatites aiguës et chroniques que l'on note des perturbations importantes dans le tracé des courbes d'hyperlipémie provoquée. Si les résultats relevés dans la littérature montrent une absorption et une utilisation des graisses tantôt nulle, tantôt retardée, l'interprétation de ces tracés plats est rendue très difficile, du fait de la coexistence des troubles de l'absorption et simultanément des altérations de la liporégulation. Le déficit d'absorption explique facilement l'absence d'hyperlipémie dans les ictères par rétention, du fait de la carence en sels biliaires. On peut penser qu'au cours des cancers du pancréas et des voies biliaires, une absence de lipase explique le défaut d'absorption. Celle-ci amènerait une déficience dans le système émulsif évoqué par FRAZER. Il en est de même dans les pancréatites chroniques. On pourrait également invoquer une défection de l'absorption due, non à l'absence de lipase, mais à un changement anatomo-pathologique au niveau de la muqueuse intestinale.

De nombreux résultats contradictoires ont été également relevés dans les épreuves d'hyperlipémie provoquée réalisées au cours de cirrhoses. Selon MAURIAC et SERVANTIE (229) la réduction de l'hyperlipémie serait conditionnée par la gravité de l'atteinte hépatique. Si BÜRGER, LEPPIEN et Mc. CLURE obtiennent au cours de leurs épreuves des tracés plats, GNEILING et VAN LEUWEN obtiennent, eux, des courbes élevées. Enfin, un cas unique de diabète est également relevé dans ce groupe. Mais il semble que la pancréatite chronique et la stéatose dont souffrait notre sujet soient plus à l'origine de cette épreuve d'hyperlipémie plate que le diabète lui-même.

### 2) - COURBES D'HYPERLIPEMIE VARIABLES DANS LE TEMPS OU DANS LEUR INTENSITE.

Tableau XII

Diagnostics cliniques de sujets présentant des courbes d'hyperlipémie variables dans le temps ou dans leur intensité

| | |
|---|---|
| Jér... | Diarrhée |
| Rem... | Polyopérée de l'abdomen |
| Cus..., Ham..., Hemm... | Ictère par rétention |
| Han..., Chai..., Blu... | Diabète |
| Ric... | Diabète, obésité, hypercholestérolémie chronique |
| Ram... | Constipation, hypercholestérolémie |
| Gran... | Ascite chyleuse |
| | |

| | |
|---|---|
| Lien..., Korn..., Schem... | Coeur pulmonaire chronique |
| Den..., Dur... | Pancréatite chronique |
| Ensm... | Néoplasme du pancréas |
| Stey..., Reich... | Pancréatite chronique |
| Man... | Pancréatite aiguë |
| Eb... | Kyste du pancréas |
| Foe... | Goutte |
| Mac... | Hyperlipémie spontanée, coronarite, angine de poitrine |
| Hi... | Hodgkin - Leucose lymphoïde |
| Bon... | Gastrectomie, cirrhose éthylique, stéatorrhée |
| Ze... | Stéatose |
| Pai... | Colite parasitaire, lambliase |
| Mag... | Asystolie |
| Boh... | Adénopathies - néoplasme du sein cholécystectomie |
| Ert... | Sigmoïdite |
| Doriz... | Néphrose lipoïdique |

Nous avons réuni dans ce groupe des épreuves dont l'intensité de l'hyperlipémie est plus ou moins normale mais retardée dans le temps, tant au point de vue absorption qu'élimination (figure 14). Nous verrons également dans ce paragraphe, l'importance d'un certain nombre d'organes intervenant dans le métabolisme lipidique.

a) L'épreuve d'hyperlipémie dans les maladies de la digestion.

Le déroulement de l'épreuve d'hyperlipémie provoquée dans les affections pancréatiques est très irrégulier . Nous avons vu, dans les épreuves réalisées précédemment, les tracés plats; BLOOR (41-43) avait constaté une augmentation plus importante de la lipémie. Dans tous les autres cas, - diminution de l'intensité de l'absorption de la graisse ingérée - les modifications de la résorption intestinale dues à une sécrétion ralentie de ferments pancréatiques, notamment de lipase, constituent l'étiologie de ces affections. Une carence en sels biliaires, entraînant un déficit dans l'absorption, expliquerait la faible hyperlipémie observée dans les ictères par rétention. Une augmentation de l'excrétion intestinale des graisses, coexistant avec l'absence de sels biliaires, pourrait expliquer l'absorption tardive observée dans certaines épreuves. Le

bilan des graisses au cours de ces hépatites montre un coefficient d'absorption normal ou peu diminué.

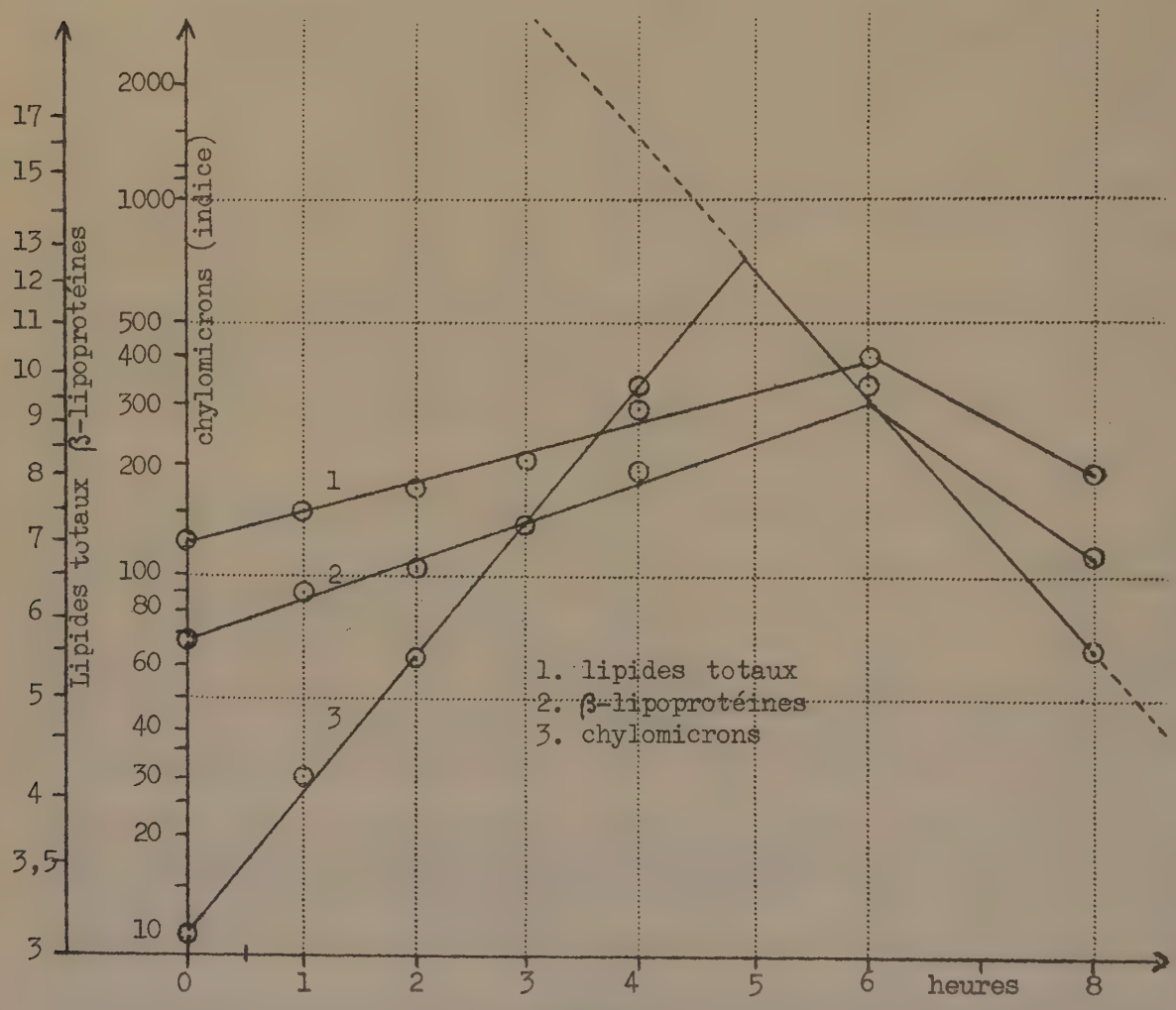



Figure 14.

Courbes d'hyperlipémie obtenues chez Du... Marcel:
pancréatite chronique.
Exemple d'une hyperlipémie variable dans le temps.

b) L'épreuve d'hyperlipémie provoquée dans les troubles intestinaux.

- Diarrhée
- Colite parasitaire, lambliase
- Sigmoïdite

Le transit intestinal des graisses ingérées étant accéléré, il en résultera un coefficient d'absorption diminué, comme l'ont montré

les épreuves que nous avons effectuées. L'absorption maxima se situera par contre, comme dans les épreuves normales, entre la troisième et la quatrième heure.

c) L'épreuve d'hyperlipémie provoquée et le transport des graisses ingérées.

- Leucémie
- Maladie de Hodgkin

La première phase de l'épreuve d'hyperlipémie ne subit aucune modification. A une absorption normale dans le temps et en intensité suit une utilisation particulièrement lente des graisses, ce qui explique un coefficient d'utilisation très bas. A la huitième heure, terme d'une épreuve normale, le taux des différents constituants lipidiques sera encore très élevé.

d) L'épreuve d'hyperlipémie et les troubles circulatoires.

- Coeur pulmonaire chronique
- Coronarite, angine de poitrine

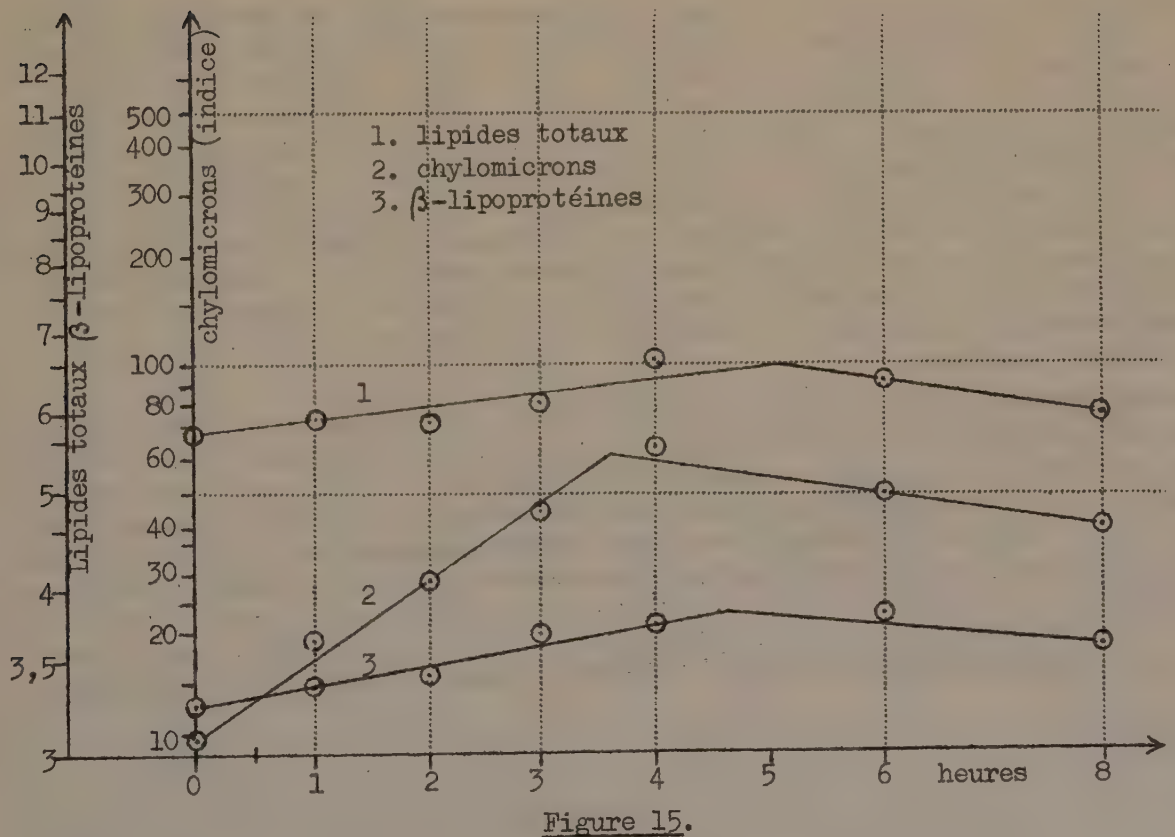



Figure 15.

Courbes d'hyperlipémie obtenues chez Pai... Raymond :
colite parasitaire, lambliase.
Exemple d'une hyperlipémie variable en intensité et dans le temps.

e) L'épreuve d'hyperlipémie provoquée et les surcharges métaboliques.

- Obésité
- Goutte
- Diabète
- Hypercholestérolémie
- Stéatose
- Néphrose lipoïdique

Le sérum des sujets étudiés se caractérise souvent dans ces cas par une forte teneur initiale en chylomicrons. Dans l'obésité, l'absorption retardée des graisses au cours de l'épreuve est due à une perturbation des échanges lipidiques, les masses de réserve, le tissu sous-cutané adipeux notamment, étant saturées. De nombreux résultats contradictoires ont été relevés dans la littérature. Contrairement aux épreuves normales de RAAB et RONY ou plates de LEPPIEN, RAAB (208) nous avons mis en évidence, comme l'avait fait TERROINE (321), une augmentation de l'intensité de l'hyperlipémie et une prolongation de l'épreuve, marquant par là une diminution de la tolérance aux graisses.

Ces mêmes contradictions se retrouvent dans les épreuves réalisées chez les diabétiques. Selon MAURIAC et SERVANTIE (229), une déficience de la sécrétion externe du pancréas, par les troubles de la résorption des graisses qu'elle provoque, entraînerait un nivellement de la courbe. Selon BLIX, CHAIKOFF (30), l'acidocétose chez le diabétique se traduit par une hyperlipémie marquée. Les graisses des dépôts sont transformées dans un stade hépatique, en corps cétoniques et vont combler les besoins énergétiques non couverts par les vices du métabolisme hydro-carboné. Le déséquilibre créé par cet état et un apport soudain de graisses semblent donc être responsable du retard d'absorption que nous avons noté au cours de nos épreuves.

Le rôle du rein dans la régulation de la lipémie a été étudié dans un cas de néphrose lipoïdique. L'épuration sanguine des graisses est ralentie d'où une courbe d'hyperlipémie forte et prolongée. Nous notons ici une augmentation de la lipémie totale, notamment du cholestérol, tendant à rétablir l'équilibre osmotique compromis par la perte en protéines, consécutive à tout syndrome néphrotique. Selon GOVAERTS, il y aurait une infiltration graisseuse des tubes rénaux due à une résorption des liquides filtrés à travers les glomérules dont la perméabilité aux lipides et aux protides est augmentée.

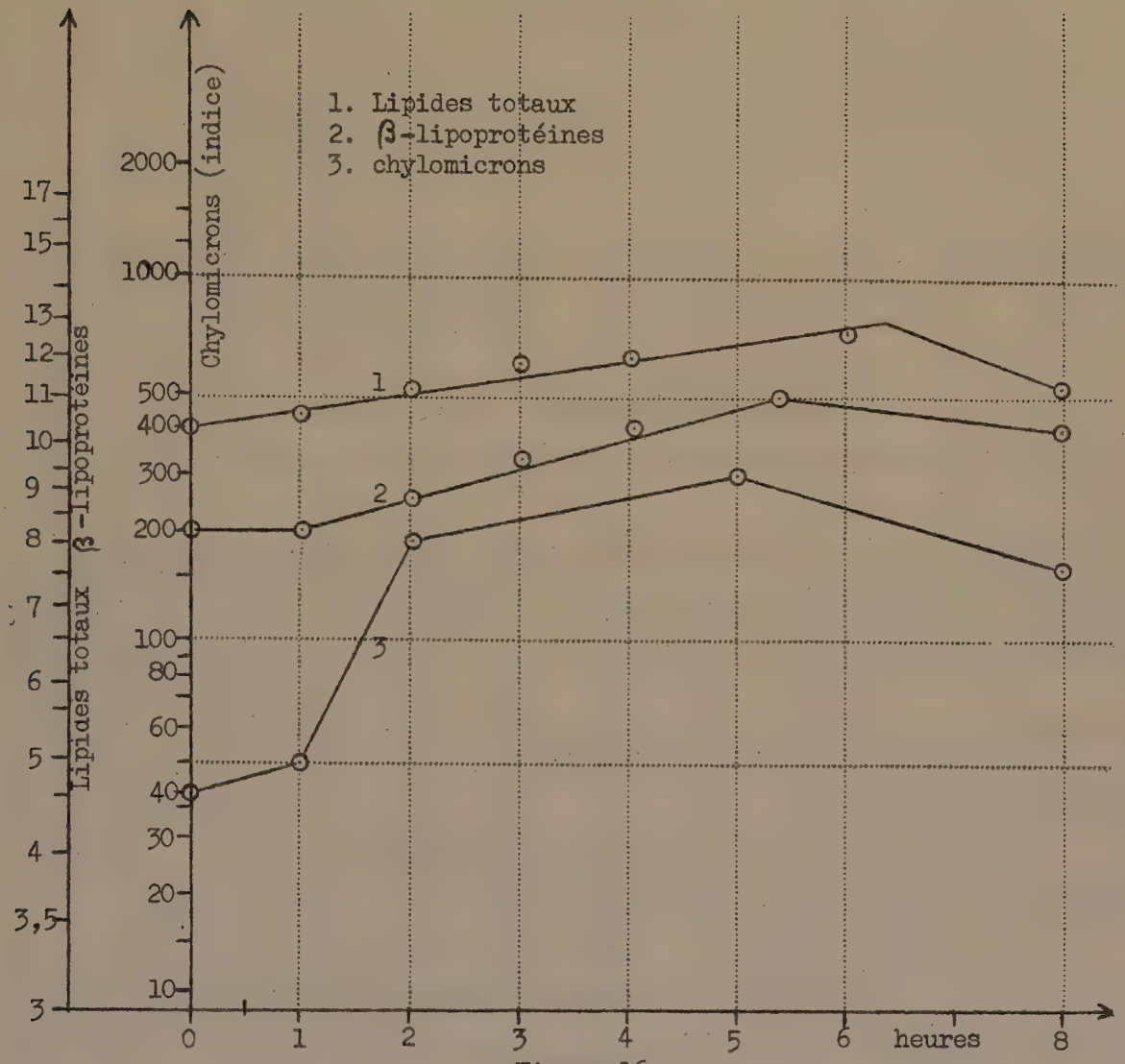



Figure 16.

Courbes d'hyperlipémie obtenues chez Ric... Madeleine :
diabète, obésité, hypercholestérolémie.
Autre exemple d'une hyperlipémie variable dans le temps et en intensité.

## 3) - LES HYPERLIPEMIES ESSENTIELLES ET PRIMITIVES.

Nous avons étudié 3 sujets hyperlipémiques. Le premier sujet Kr...François est un homme âgé de 36 ans, pesant 72 kg , mesurant 1,75 m et suspect de cirrhose éthylique.Une première analyse de contrôle permettait la découverte d'une hyperlipémie constante. Voici l'analyse des constituants lipidiques du sérum à l'admission :

Lipides totaux ..... 28,9 g %o
Chylomicrons (indice) ..... 76
β lipoprotéines ..... 20,5 g %o
Cholestérol ..... 6,41 g %o
Phospholipides ..... 4,73 g %o
Acides gras libres ..... 2,6 mEq/l

Une épreuve d'hyperlipémie provoquée, réalisée dans les conditions identiques aux précédentes, avec 100 g d'huile d'arachide, donnait les résultats suivants (cf. tableau XIII) :

Tableau XIII

| Constituants lipidiques du sérum | A jeun | 1 | 2 | 3 | 4 | 6 | 8 | 10 | 24 | 48h. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chylomicrons (indice) | 16 | 63 | 200 | 360 | 330 | 185 | 120 | 80 | 38 | 16,5 |
| β lipoprotéines g ‰ | 7,6 | 9,5 | 9,9 | 11,02 | 10,83 | 10,26 | 8,74 | 7,98 | 7,79 | 4,18 |
| Lipides totaux g ‰ | 8;9 | 9,8 | 10,43 | 11,5 | 11,83 | 11,80 | 10,12 | 9,10 | 10,78 | 5,30 |
| Phospholipides g ‰ | 1,5 | 1,6 | 1,72 | 1,77 | 1,63 | 1,72 | 1,61 | 1,55 | | 1,5 |
| Acides gras libres mEq/l | 0,53 | 0,56 | 0,63 | 0,66 | 0,71 | 0,61 | 0,55 | 0,52 | 0,45 | |
| | Le cholestérol présentait un taux constant de 2,7 g ‰ | | | | | | | | | |

Si le coefficient d'absorption 22,7 était normal, cette absorption étant maxima après 180 minutes, il n'en était pas de même du coefficient d'utilisation, fortement abaissé : $4,8 \cdot 10^{-3}$. Le rythme et le rendement de l'absorption contrastaient avec le ralentissement de l'épuration sanguine. Le prélèvement effectué 48 heures après l'ingestion de l'huile, montrait l'importance de ce ralentissement.

Le sujet était alors soumis, trois jours durant, à un régime hypolipidique et hypocalorique (1 000 calories). Une épreuve d'hyperlipémie provoquée donnait alors les résultats suivants (cf. tableau XIV) :

Tableau XIV

Lipémie après trois jours de régime hypocalorique

| Constituants lipidiques du sérum | A jeun | 3 heures | 8 heures |
|---|---|---|---|
| Chylomicrons (indice) | 18 | 400 | 320 |
| β lipoprotéines g ‰ | 6,08 | 9,88 | 9,12 |
| Lipides totaux g ‰ | 7,63 | 10,28 | 9,90 |
| Acides gras libres mEq/l | 0,40 | 0,59 | 0,61 |

Un régime hyperlipémique, régime normal comportant l'addition de trois fois 100 g de beurre par jour était appliqué au sujet durant le même laps de temps. Un prélèvement effectué le quatrième jour montrait une augmentation moindre des différentes fractions (cf. tableau XV) :

Tableau XV

Lipémie après trois jours de régime hypercalorique

| Constituants lipidiques du sérum | A jeun |
|---|---|
| Chylomicrons (indice) | 28 |
| β lipoprotéines g ‰ | 4,56 |
| Lipides totaux g ‰ | 6,86 |
| Phospholipides g ‰ | 1,93 |
| Acides gras libres mEq/l | 0,56 |

Trois faits sont à retenir après la comparaison des résultats obtenus chez ce sujet :

1°) L'influence favorable du régime hyperlipidique et hypercalorique appliqué à notre sujet, à tel point que le régime hyperlipédique et hypercalorique n'entraîne que peu de modifications dans le taux des constituants lipidiques.

2°) Les perturbations du métabolisme lipidique portent essentiellement sur l'utilisation des graisses et non sur l'absorption. Un coefficient d'absorption normal et une absorption maxima entre la troisième et la quatrième heure contrastent avec un coefficient d'utilisation très abaissée.

3°) La simplicité de la thérapeutique appliquée. Une restriction lipidique très sévère est en effet suffisante pour faire disparaître l'ensemble des troubles biologiques.

La découverte de l'hyperlipémie chez le deuxième sujet Bu... fut fortuitement réalisée, en absence de tout symptôme, au cours d'un examen de sang demandé pour une autre raison. Le sérum du malade, prélevé à jeun, est lactescent, contenant un taux anormalement élevé de lipides totaux, supérieur à 20 g %o. Une analyse plus poussée montrait une augmentation des triglycérides mais les autres fractions lipidiques sont de même augmentées, étant donné la solidarité des fractions entre-elles, mais d'une façon moins marquée. Les triglycérides en excès se trouvent essentiellement dans les chylomicrons. Le lipidogramme montrait à l'évidence l'abondance des lipides insolubles ne migrant pas à l'électrophorèse sur papier. Une trainée importante correspondant aux chylomicrons, se situe presque au niveau du point de départ de la migration. Il y a augmentation des $\beta$ lipoprotéines lentes de densité 1019 ou inférieure et de Sf 20-100 et plus encore de la trainée, faite des $\beta$ lipoprotéines très lentes de très basse densité et de Sf 20-400 et supérieure à 400. Par contre, les $\alpha$ lipoprotéines sont diminuées.

Un traitement au sitostérol fut appliqué à ce malade. Des dosages à intervalles réguliers nous ont permis de suivre les variations de l'hyperlipémie en fonction du traitement (cf. tableau XVI).

Tableau XVI

| | Chylomicrons | $\beta$lipoprotéines g ‰ | Lipides totaux g ‰ | Cholestérol g ‰ |
|---|---|---|---|---|
| Avant traitement | 1000 | 17,48 | 21,45 | 3,29 |
| ler traitement | | | | |
| 13 - 2 - 61 | 500 | 9,5 | 16,9 | 2,35 |
| Arrêt du traitement | | | | |
| 24 - 2 - 61 | 850 | 11,4 | 18,85 | 3,52 |
| 10 - 3 - 61 | 1200 | 13,3 | 21,30 | 3,57 |
| 22 - 3 - 61 | 2000 | 20,52 | 23,10 | 3,76 |

| | Chylomicrons | β lipoprotéines g ‰ | Lipides totaux g ‰ | Cholestérol g ‰ |
|---|---|---|---|---|
| 2ème traitement | | | | |
| 10 - 4 - 61 | 800 | 15,96 | 20,93 | 2,82 |
| Arrêt du traitement | | | | |
| 22 - 4 - 61 | 1000 | 19,38 | 22,17 | 3,52 |
| 2 - 5 - 61 | 2500 | 22,80 | 27,10 | 3,92 |
| 3ème traitement | | | | |
| | 840 | 14,82 | 19,80 | 3,05 |
| | 750 | 13,68 | 17,12 | 2,91 |
| Arrêt du traitement | | | | |
| 13 - 6 - 61 | 3450 | 26,22 | 34,87 | - |
| 28 - 6 - 61 | 4200 | 26,60 | 37,65 | 4,51 |
| 25 - 7 - 61 | 4625 | 27,36 | 26,95 | - |
| 4ème traitement | | | | |
| | 2500 | 22,8 | 26,95 | - |
| Arrêt du traitement | 3650 | 25,08 | 29,10 | - |
| octobre 1961 | 4250 | 27,36 | 36,84 | 4,42 |

L'examen des résultats avant et après traitement au sitostérol nous montre l'influence de cette thérapeutique. Contrairement au cas précédent où nous pouvions considérer la guérison du malade comme acquise durant le temps de l'observation, un traitement continu est nécessaire ici. Si l'administration du sitostérol semble faire rétrograder l'hyperlipémie observée, cette rétrocession étant de moins en moins marquée au cours des différents traitements, l'arrêt semble entraîner une accentuation immédiate de l'hyperlipémie. Il est regrettable que nous n'ayons pu réaliser, chez ce malade, une épreuve d'hyperlipémie provoquée.

Le sérum du troisième sujet, Ju...Jeannette, âgé de 28 ans, présente le même aspect que précédemment, lactescent, voire crèmeux. Les lipides totaux, très augmentés atteignent 90 g ‰, avec une augmentation essentielle des triglycérides. De même, l'électrophorèse donne un tracé identique au précédent. Le sérum contient :

Chylomicrons (indice) ..... 8000
Lipides totaux ..... 90 g ‰
β lipoprotéines ..... 76 g ‰
Cholestérol ..... 10,30 g ‰

L'épreuve d'hyperlipémie provoquée, avec 100 g d'huile d'arachide, donne les résultats suivants (cf. tableau XVII) :

Tableau XVII

| | A jeun | 1 | 2 | 3 | 4 | 6 | 8 | 10 h. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Chylomicrons (indice) | 50 | 43 | 130 | 140 | 210 | 155 | 260 | 89 |
| Lipides totaux g ‰ | 17,60 | 15,10 | 16,12 | 16,22 | 16,82 | 15,80 | 16,20 | 14,90 |
| $\beta$ lipoprotéines g ‰ | 11,80 | 11,80 | 12,26 | 12,92 | 13,30 | 12,64 | 13,30 | 11,78 |
| | Le taux du cholestérol est constant : 4,60 g ‰ | | | | | | | |

A l'inverse du premier cas étudié, l'anomalie biochimique porte ici sur l'absorption et non sur l'utilisation. On note un coefficient d'absorption fortement abaissé et une absorption maxima à la huitième heure.

## CONCLUSIONS GENERALES

Les études des diverses phases de l'absorption intestinale des graisses, les facteurs intervenant au cours du métabolisme ont été étudiés au début de notre travail.

L'historique de l'épreuve d'hyperlipémie provoquée, les modifications apportées par les expériences antérieures nous ont permis de définir les conditions optima du déroulement de l'épreuve : sujet d'expérience, quantité et mode d'administration de la graisse.

Nous avons ensuite analysé les méthodes de dosage des fractions lipidiques. La répétition des prélèvements et la diversité des dosages nous ont amené à utiliser pour les lipides totaux la microméthode de SWAHN, dont nous avons déterminé la précision. La méthode néphélométrique de MORETON, permettant la mesure quantitative de l'effet Tyndall dans les sérums a été adaptée au fluoromètre Photovolt 540 utilisé comme diffusomètre. Les résultats sont exprimés arbitrairement en unités de chylomicrons. Le dosage des lipoprotéines, des phospholipides, du cholestérol et des acides gras non estérifiés a été réalisé selon les techniques classiques.

Nous avons effectué nos épreuves en utilisant des quantités variables - 50 et 100 grammes - de diverses graisses naturelles : coco, palmiste, arachide et arachide hydrogénée, maïs, palme, le beurre étant la graisse de référence. Ces graisses ont été classées en trois groupes selon les courbes d'hyperlipémie obtenues :

- les graisses à hyperlipémie faible
  - huile de coco
  - huile de palmiste
- les graisses à hyperlipémie moyenne
  - beurre
  - huile de palme
- les graisses à hyperlipémie forte
  - huile d'arachide
  - huile d'arachide hydrogénée
  - huile de maïs

La composition en acides gras des diverses huiles, la longueur des chaînes carbonées sont à notre avis à l'origine de cette classification.

L'utilisation d'une huile type, l'huile d'arachide, nous a permis l'étude des hyperlipémies anormales et la classification des affections étudiées en trois groupes selon les résultats de l'hyperlipémie. Certaines affections ne provoquent aucune modifi-

cation de la lipémie après administration de graisse. Ce sont essentiellement les affections du pancréas et des voies biliaires, qui sont à l'origine de ces déficits d'absorption. D'autres affections provoquent un retard ou une diminution de l'hyperlipémie. Elles retentissent sur les différentes phases du métabolisme des lipides, l'absorption : troubles intestinaux, le transport : troubles circulatoires ou lymphatiques, les dépôts : obésité, stéatose, diabète. Enfin, les hyperlipémies essentielles doivent être classées à part. Mais souvent l'hyperlipémie est due à une accumulation de graisses alimentaires provoquée par un trouble de l'utilisation lipidique.

# B I B L I O G R A P H I E

(1) - ADLERSBERG (D.) - The malabsorption syndrome. - Grune & Stratton, New-York, London.

(2) - AHRENS (E.H., Jr) et BORGSTRÖM (B.) - Exchange of free fatty acids and glyceride fatty acids during fat digestion in the human intestine. - J. Biol. Chem., 1956, 219, 665-675.

(3) - AMSELEM (A.) - Contribution à l'étude de l'athérome expérimental. Effet du 67-82, complexe aminé, dérivé de la protamine. -

(4) - ANNEGERS (J.H.) et IVY (A.C.) - Effect of dietary fat upon gastric evacuation in normal subjects. - Amer. J. Physiol., 1947, 150, 461-465.

(5) - ANNEGERS (J.H.) - Function of pancreatic juice and of bile in assimilation of dietary triglyceride. - Arch. Int. Med., 1954, 93, 9-22.

(6) - ANTONIADES (H.N.), TULLIS (J.L.), SARGEANT (L.H.), PENNELL (R.B.) et ONCLEY (J.L.) A simple nephelometric test for bêta-lipoproteins of human serum. - J. Lab. Clin. Med., 1958, 51, 630-637.

(7) - ARGYRIS (A.) et FRANCK (O.) - Die Resorption der Monoglyceriden der höheren Fettsäuren. - Z. f. Biol., 1912, 59, 143.

(8) - ARNOLDI (W.) et COLLAZO (I.A.) - Blutzucker und Blutfett. - Z. ges. exper. Med., 1924, 40, 323-340.

(9) - ARTOM (C.) - Sur le rôle des phosphoaminolipides dans le métabolisme des graisses. Expériences avec introduction parentérale de graisses iodées. Arch. Intern. de Physiol., 1933, 36, 101-128.

(10) - ARTOM (C.) - Les lipides du foie pendant l'absorption des graisses neutres. - Arch. Ital. Biol., 1933, 90, 91.

(11) - ARTOM (C.) et PERETTI (G.) - Sur le rôle des phosphoaminolipides dans le métabolisme des graisses. Les lipides de la muqueuse intestinale pendant l'absorption de graisses iodées. - Arch. Intern. de Physiol., 1935, 42, 61-94.

(12) - ARTOM (C.) et REALE (H.) - Sur la formation de produits intermédiaires dans la digestion des graisses neutres par le pancréas. - Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim., 1935, 10, 883.

(13) - ARTOM (C.) et SWANSON (M.A.) - On absorption of phospholipides. - J. Biol. Chem., 1948, 175, 871-881.

(14) - AULD (W.H.R.) et NEEDHAM (C.D.) - Experiments on fat absorption in case of chylothorax. - Lancet, 1951, 260, 991-993.

(15) - BADIN (J.) et SCHMITT (F.) - Estimation turbidimétrique de la béta-lipoprotéine par la méthode de Burstein. Spécificité de cette méthode. - Ann. de Biol. Clin., 1957, 15, 7-9, 421-427, 469-473.

(16) - BANG (I.) - Verfahren zur titrimetrischen Mikrobestimmung der Lipoidstoffe. - Biochem. Ztschr., 1918, 91, 86.

(17) - BARNES (R.H.), MILLER (E.S.) et BURR (G.O.) - Influence of adrenals on the fat transport into the liver. - J. Biol. Chem., 1941, 140, 247-253.

(18) - BARNES (R.H.), MILLER (E.S.) et BURR (G.O.) - Absorption and transport of fatty acids across intestinal mucosa. - J. Biol. Chem., 1941, 140, 233-240.

(19) - BOUR (H.) et SOLIGNAC (H.) - Xanthomatose cutanée tendineuse hypercholestérolémique familiale. - Presse Médicale, 1960, 68, 143-145.

(20) - BARR (D.P.), RUSS (E.M.) et EDER (H.A.) - Protein - lipid relationships in human plasma, in atherosclerosis and related conditions. - Amer. J. Med., 1951, 11, 480-493.

(21) - BAUER (R.) - Uber die Assimilation von Galaktose und Milchzucker beim Gesunden und Kranken. - Wien. Med. Wschr., 1906, 56, 20-23.

(22) - BAVETTA (L.), HALLMAN (L.), DEUEL (H.J., Jr) et GREELEY (P.O.) - Effect of adrenaloectomy on fat absorption . - Amer. J. Physiol., 1941, 134, 619-622.

(23) - BEAUMONT (J.L.), BEAUMONT (V.) et LENEGRE (V.) - Rev. Franç. Clin. et Biol., 1958, 3, 852.

(24) - BECKER (G.H.), MEYER (J.) et NECHELES (H.) - Fat absorption and atherosclerosis. - Science, 1949, 110, 529-530.

(25) - BEISCHER (D.E.) - Electron microscopy of human plasma lipoprotein separated by ultracentrifugation. - Circul. Res., 1954, 2, 164-168.

(26) - BERNFELD (P.), BERKOWITZ (M.E.) et DONAHUE (V.M.) - J. Clin. Invest., 1957, 36, 1363.

(27) - BING (H.I.) et HECKSCHER (H.) - Untersuchung über lipämie. - Biochem. Ztschr., 1924, 149, 83.

(28) - BLACK (D.A.K.), BOUND (J.P.) et FOURMAN (L.P.R.) - Fat absorption in tropical sprue. - Quart. J. Med., 1947, 16, 99-109.

(29) - BLACK (D.A.K.), SIMPSON (J.A.) - Serum lipids in tropical sprue. - Trans. Soc. Roy. Trop. Med. Hyg., 1947, 41, 241-254.

(30) - BLIX (G.) - Studies on diabetic lipemia. - Lund, 1925.

(31) - BLIX (G.), TISELIUS (A.) et SWENSOON (H.) - Lipids and polysaccharids in electrophoretically separated blood serum proteins. - J. Biol. Chem., 1941, 137, 485.

(32) - BLOMSTRAND (R.), AHRENS (E.H., Jr) - The absorption of fats studied in a patient with chyluria. II Palmitic and oleic acids. III Cholesterol. - J. Biol. Chem., 1958, 233, 321-326, 327-330.

(33) - BLOMSTRAND (R.), DAHLBACK (O.) et LINDER (E.) - Asymetric incorporation of linoleic acid -1-$C^{14}$ and stearic acid -1-$C^{14}$ into human lymph lecithins during fat absorption. - Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1959, 100, 768-771.

(34) - BLOMSTRAND (R.) - On the intestinal absorption of phospholipids in the rat. - Acta Chem. Scand., 1954, 8, 1945-46.

(35) - BLOMSTRAND (R.) - On the intestinal absorption of phospholipids in the rat. - Acta Phys. Scand., 1955, 34, 145-157.

(36) - BLOOM (B.), KIYASU (J.Y.), REINHARDT (W.O.) et CHAIKOFF (I.L.) - Absorption of phospholipids : manner of transport from intestinal lumen to lacteals. - Amer. J. Physiol., 1954, 177, 84-86.

(37) - BLOOM (B.), CHAIKOFF (I.L.), REINHARDT (W.O.) et DAUBEN (W.G.) - Participation of phospholipids in lymphatic transport of absorbed fatty acids. - J. Biol. Chem., 1951, 189, 261-267.

(38) - BLOOM (B.), CHAIKOFF (I.L.), REINHARDT (W.O.), ENTENMAN (C.E.) et DAUBEN (W.G.). The quantitative significance of the lymphatic pathway in transport of absorbed fatty acids. - J. Biol. Chem., 1950, 184, 1-8.

(39) - BLOOM (B.), CHAIKOFF (I.L.) et REINHARDT (W.O.) - Intestinal lymph as pathway for transport of absorbed fatty acids of different chain length. - Amer. J. Physiol., 1951, 166, 451-455.

(40) - BLOOR (W.R.) - Studies on blood fat. II Fat absorption and blood lipids. - J. Biol. Chem., 1915, 23, 317.

(41) - BLOOR (W.R.) - A method for the determination of fat in small amounts of blood. J. Biol. Chem., 1914, 17, 377.

(42) - BLOOR (W.R.) - The determination of small amounts of lipid in blood plasma. - J. Biol. Chem., 1928, 77, 53-73.

(43) - BLOOR (W.R.) - A colorimetric procedure for the determination of small amounts of fatty acid. - J. Biol. Chem., 1947, 170, 671.

(44) - BÖHLE (E.), SCHRADE (W.), BIEGLER (R.), LARBIG (D.) et KARYTSIOTIS (J.) - Gaschromatographische Untersuchungen der Serumfettsäuren des Menschen. Uber die alimentäre Hyperlipidämie nach verschiedenen Nahrungsfetten. - Kl. Wschr., 39 Jahrgang. Heft 1, 5-17. IV Mitteilung.

(45) - BOHM (E.), GERNANDT (B.) et HOLMGREN (H.) - Investigation of the daily rythms in the production of chylomicrons on the supply of fat. - Acta Med. Scand., 1940, 106, 579.

(46) - BOLLMAN (J.L.), FLOCK (E.V.), CAIN (J.C.) et GRINDLAY (J.H.) - Lipids of lymph following feeding of fat : experimental study. - Amer. J. Physiol., 1950, 163, 41-47.

(47) - BONFILS (S.) - Métabolisme des lipides. Introduction physiologique. - La Revue du Praticien, tome VIII, 1958, 20, 3-6.

(48) - BORGSTRÖM (B.) - On mechanism of intestinal fat absorption III. Metabolism of lipids 4. - Acta Physiol. Scand., 1952, 25, 140-149.

(49) - BORGSTRÖM (B.) - On mechanism of intestinal fat absorption IV. Metabolism of lipids 6. - Acta Physiol. Scand., 1952, 25, 291-314.

- Investigation on lipids separation methods. Separation of phospholipids from neutral fat and fatty acids. - Acta Physiol. Scand., 1952, 25, 101-110.

(50) - BORGSTRÖM (B.) - On the mechanism of the intestinal fat absorption. - Acta Chem. Scand., 1951, 5, 643-646.

(51) - BORGSTRÖM (B.) - Randomization of glyceride fatty acids during absorption from the small intestine of the rat. - J. of Biol. Chem., 1955, 214, 671-675.

(52) - BORGSTRÖM (B.) - The formation of new glyceride ester bounds during digestion of glycerides in the lumen of small intestine of the rat. - Arch. Biochem. & Biophys., 1954, 49, 268-275.

(53) - BORGSTRÖM (B.) - On the mechanism of pancreatic lipolysis of glycerides. - Biochim. Biophys. Acta, 1954, 13, 491-504.

(54) - BORGSTRÖM (B.) - Investigation of the intestinal absorption of ethyloleate in the rat. - Acta Phys. Scand., 1952, 25, 322-327.

(55) - BORGSTRÖM (B.) - On the action of pancreatic lipase on triglycerides in vivo et in vitro. - Acta Phys. Scand., 1952, 25, 328-347.

(56) - BORGSTRÖM (B.) et TRYDING (N.) - Free fatty acid content of rat thoracic duct. Acta Phys. Scand., 1956, 37, 127-133.

(57) - BOYD (E.M.) - Diurnal variations in plasma lipids. - J. of Biol. Chem., 1935, 110, 61-70.

(58) - BOYD (E.M.) - The oxidative micro-estimation of plasma total lipide. - J. Lab. & Clin. Med., 1937, 22, 956.

(59) - BOYLE (E.) et MOORE (R.V.) - A new precipitation method for estimating serum beta-lipoproteins. - J. Lab. Clin. Med., 1959, 53, 272-281.

(60) - BRAEUNING (H.) - Weitere Untersuchungen über Verdauugslipämie. - Zentralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsel. Berl. u. Wien, n. s., iv., 1909, 18-31.

(61) - BRAGDON (J.H.) - J. Lab. Clin. Invest., 1958, 52, 564.

(62) - BRAGDON (J.H.) et KARMEN (A.) - The fatty acid composition of chylomicrons, of chyle and serum following the ingestion of different oils. - J. of lipid research., 1960, 1, 167-170.

(63) - BRAGDON (J.H.) - Colorimetric determination of blood lipide. - J. Biol. Chem., 1951, 190, 513.

(64) - BRAGDON (J.H.), HAVEL (R.J.) et BOYLE (E.) - Human serum lipoproteins : Chemical composition of 4 fractions. - J. Lab. Clin. Med., 1956, 48, 36-42.

(65) - BRANDSTEIN (M.) et CASTELLANO (A.) - A simple method for determination of total lipid in serum. - J. Lab. Clin. Invest., 1961, 57, 300.

(66) - BROCKETT (S.H.), SPIERS (M.A.) et HIMWICH (H.E.).- Lipid components of lymph of thoracic duct of dog. - Am. J. Physiol., 1935, 110, 342-347.

(67) - BRULE (M.) et LEMIERRE (A.) - La lipémie alimentaire dans quelques ictères. Dissociation de la sécrétion biliaire au cours de certaines affections hépatiques. - Bull. Mém. Soc. Hôp. Paris, 1910, p. 839-847.

(68) - BUCHANAN (A.) - On the white or opaque serum of the blood. - London and Edinburgh monthly. J.,1844, 4, 599.

(69) - BUCHANAN (A.) - Cité d'après NISSEN (I). Studies in alimentary lipemia in man. Lewin & Munksgaard Copenhague, 1933.

(70) - BURGER (M.) et HABS (H.) - Die alimentäre Hypercholesterinämie beim Stoffwechsel gesunden Menschen. - Z. ges. Exp. Med., 1927, 56, 640-647.

(71) - BURGER (M.) - Die Physiologie u. Pathologie der Hyperlipämie. - Deutsch. Med. Wochsch., 1932, 58, 582-586.

(72) - BURSTEIN (M.) et SAMAILLE (J.) - Sur une nouvelle méthode de dosage des béta-lipoprotéines du sérum. - Sem. des Hôp. de Paris, Pathologie et Biologie, 1958, 34, 7-8, 541-549.

(73) - BURSTEIN (M.) - Sur l'isolement d'une fraction des lipoprotéines sériques après précipitation par l'héparine ou par les héparinoïdes de synthèse. - C.R. Acad. Sc., 1956, 243, 527-529.

(74) - BURSTEIN (M.) et SAMAILLE (J.) - Sur la clarification du sérum lipémique par l'héparine in vitro. - C.R. Acad. Sc., 1955, 241, 664-665.

(75) - BURSTEIN (M.) et PRAWERMANN (M.) - Précipitation des béta-lipoprotéines et des chylomicrons par la polyvinylpyrrolidone. - Sem. des Hôp. Path. et Biol., 1959, n° 9-10, 1035-1038.

(76) - BURSTEIN (M.) - C.R. Acad. Sc., 1956, 243, 2185.

(77) - BURSTEIN (M.) et SAMAILLE (J.) - Clin. Chim. Acta, 1958, 3, 320.

(78) - CASTAIGNE (A.) - Examens biologiques de routine destinés à l'étude des dyslipémies. - Toulouse-Médical, 60ème année, 1959, 1, 11-39.

(79) - CASTAIGNE (A.) et AMSELEM (A.) - Ann. Biol. Clin., 1959, 5-6, 336-347.

(80) - CAVANAGH (B.) et RAPER (H.S.) - Study of passage of fatty acids of food into lipids and glycerids of the body using Deuterium as an indicator. Biochem. J., 1939, 33, 17-21.

(81) - CHAIKOFF (I.L.), BLOOM (B.), SIPERSTEIN (M.D.), KIYASU (J.Y.), REINHARDT (W.O.), DAUBEN (W.G.) et EASTHAM (J.F.) - $C^{14}$ Cholesterol I., Lymphatic transport of absorbed cholesterol 4 - $C^{14}$. - J. Biol. Chem., 1952, 194, 407-412.

(82) - CHAIKOFF (I.L.), Mc GAVACK (T.H.) et KAPLAN (A.) - The blood lipids in the post absortive state and after the ingestion of fat in normal human subjects and in case of disseminated cutaneous xanthomata. - J. Clin. Invest., 1934, 13, 1-13.

(83) - CHARGAFF (E.) - Lipoproteins. - Advances Protein Chem., 1944, 1, 1.

(84) - CLEMENT (G.) - Acquisitions récentes dans le domaine de la digestion et de la résorption des graisses. - Sem. des Hôp., Pathologie et Biol., 1958, n° 11-12, 931.

(85) - CLEMENT (G.) et CLEMENT (J.) - Sur le mécanisme chimique de l'hydrolyse enzymatique des huiles et des graisses naturelles. Influence du degré de désaturation du substrat sur la vitesse d'hydrolyse, in vitro, par le suc pancréatique; étude du degré de désaturation des acides gras libérés. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1954, 36, 1319-1328.

(86) - CLEMENT (G.) et CLEMENT (J.) - Etude de la cholestérolestérase du suc pancréatique : mise en évidence d'une affinité relative pour certains acides gras. - C.R. Soc. Biol., Paris, 1956, 150, 336-339.

(87) - CLEMENT (G.), CLEMENT (J.) et DREVET (M.) - Sur le mécanisme chimique de l'hydrolyse enzymatique des huiles et des graisses naturelles. II Etudes des constituants lipidiques du contenu intestinal de rat après administration d'huiles ou de graisses diversement saturées. Influence du suc pancréatique et de la bile. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1955, 37, 857-865.

(88) - CLEMENT (G.), CLEMENT (J.) et MICHON-RAJON (S.) - Influence du degré de désaturation du substrat sur le cours de l'hydrolyse des triglycérides par le suc pancréatique. - J. Physiol., Paris, 1954, 46, 303-305.

(89) - COHN (E.J.), STRONG (L.E.), HUGHES (W.L.), MULFORD (D.J.), ASHWORTH (J.N.), MELIN (M.) et TAYLOR (H.L.) - Preparation and properties of serum and plasma proteins. - J. Am. Chem. Soc., 1946, 68, 459.

(90) - COLIN (J.) et POLONOWSKI (Cl.) - Etude critique des techniques d'hyperlipémie provoquée et de leurs résultats en pédiatrie. - Ann. Biol. Clin., 1952, 5-6, 267.

(91) - COWIE (D.M.) et HOAG (L.A.) - Studies in blood fat. - J. A. M.A., 1921, 77, 1493.

(92) - CRANDALL (C.A.,Jr) et IVY (H.B.) - Bile salts and fat absorption. - Am. J. Physiol., 1940, 129, 341.

(93) - CREMER (H.D.) - Tetrahydrofuran als Extraktionsmittel zur Lipoid-bestimmung in Blut und Serum. - Klin. Wochnschr., 1949, 27, 755.

(94) - CUNNINGHAM (R.N.) et PETERS (B.A.) - Chemical nature of the ultra-microscopic particules of serum. - Biochem. J., 1938, 32, 1482-1495.

(95) - DAWSON (A.M.) et ISSELBACHER (K.J.) - The esterification of palmitate 1 - $C^{14}$ by homogenates of intestinal mucosa. - J. Clin. Invest., 1960, 39, 150-160.

(96) - DE GENNES (J.L.), LAUDAT (Ph.) et TRUFFERT (J.) - Etude critique d'un protocole à court terme d'une action hypocholestérolémiante pharmacologique. Application à une nouvelle médication : le 6782. - Presse Médicale, 1958, 66, 1108-1110.

(97) - DE LALLA (O.), ELLIOTT (H.A.) et GOFMAN (J.W.) - Ultracentrifugal studies of high density serum lipoproteins in clinically healthy adults. - Am. J. Physiol., 1954, 179, 333-337.

(98) - DELSAL (J.L.) - Nouveau procédé d'extraction des lipides du sérum par le méthylal. Applications aux microdosages du cholestérol total, des phosphoaminolipides et des protides. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1944, 26, 99-105.

(99) - DENIS (W.) - Cholesterol in blood. - J. Biol. Chem., 1917, 29, 93.

(100) - DESNUELLE (P.) - Progress in the chemistry of fats and other lipids. - London, 1952, 1, 70.

(101) - DESNUELLE (P.) - Quelques aspects biochimiques du caractère alimentaire des corps gras. - Revue Française des Corps gras, 1957, 4 (8-9), 427-433.

(102) - DESNUELLE (P.) et CONSTANTIN (M.J.) - Formation de glycérides partiels pendant la lipolyse des triglycérides dans l'intestin. - Biochim. Biophys. Acta, 1952, 9, 531.

(103) - DESNUELLE (P.), NAUDET (M.) et CONSTANTIN (M.J.) - Action des sels de calcium sur l'hydrolyse des triglycérides par la pancréatine et le suc pancréatique. - Biochim. Biophys. Acta, 1950, 5, 561-568.

(104) - DESNUELLE (P.), NAUDET (M.) et ROUZIER (J.) - Sur la formation de glycérides partiels au cours de l'hydrolyse des triglycérides par la lipase pancréatique. - C.R. Soc. Biol., Paris, 1947, 141, 1242-1244.

(105) - DESNUELLE (P.), NAUDET (M.) et ROUZIER (J.) - Etude quantitative de la formation de glycérides partiels au cours de l'hydrolyse fermentaire des triglycérides. - Biochim. Biophys. Acta, 1948, 2, 561-574.

(106) - DOLE (V.P.) - Fractionation of plasma non esterified fatty acids. - Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 1956, 93, 532-533.

(107) - DOLE (V.P.), HAMLIN (J.T.) - Particulate fat in lymph and blood. - Phys. Rev., 1962, 42, 674-701.

(108) - DOLE (V.P.) - Relations between non esterified fatty acids in plasma and metabolism of glucose. - J. Clin. Invest., 1956, 35, 150-154.

(109) - DOLE (V.P.), JANUS (A.T.), WEBB (J.P.), RIZACK (M.A.), STURMANN (M.F.). - The fatty acids patterns of plasma lipids during alimentary lipemia. J. Clin. Invest., 1959, 38, 1544-1553.

(110) - DRUMMOND (J.C.), BELL (M.E.) et PALMER (E.T.) - Observation on the absorption of carotene and vitamin A. - Brit. Med. J., 1935, I, 1208-1210.

(111) - DU BOIS (E.F.) - Basal metabolism in health and disease. - Philadelphia Lea and Febiger, 1936, p. 125-144.

(112) - DURUPT (A.) - Microméthodes et semi-microméthodes appliquées aux analyses du sang et des humeurs. - Ed. Poinat, 1924, 284 p.

(113) - EDER (H.A.) - The lipoproteins of human serum. - Am. J. Med., 1957, 23, 269-282.

(114) - EDMUNDS (J.) - Monthly Micr. J., 1877, 18, 78-85.

(115) - EGGSTEIN (M.) et SCHETTLER (G.) - Fette, Ernährung u. Arteriosklerose. - Dtsche Med. Wchschr., 1958, 83, 702-706, 750-755.

(116) - ELKES (J.J.), FRAZER (A.C.) et STEWART (H.C.) - The composition of particles seen in normal human blood under darkground illumination. - J. Physiol., 1939, 95, 68-82.

(117) - ELMER (A.W.) et SCHEPS (M.) - Die Cholesterinfettprobe bei Lebercirrhose. - Klin. Wchschr., 1928, 7, 1083-1084.

(118) - FASOLI (A.) - Electrophoresis of serum lipoproteins on filter-paper. - Lancet, 1952, 262, 106.

(119) - FAVARGER (P.) - Le rôle du cholestérol dans la résorption des graisses. - Arch. Int. Pharmac., 1944, 68, 409-418.

(120) - FAVARGER (P.) - Influence favorable de certains stérols sur la cholestérolémie et le rôle dans la résorption du cholestérol. - Journées Thérapeutiques de Paris, G. Doin & Cie, 1955, p. 51.

(121) - FAVARGER (P.) et METZGER (E.F.) - La résorption intestinale du deutérocholestérol et sa répartition dans l'organisme animal sous forme libre et estérifiée. - Helv. Chim. Acta, 1952, 35, 1811-1819.

(122) - FAVARGER (P.), COLLET (R.A.) et CHERBULIEZ (E.) - Etude de la résorption intestinale des graisses à l'aide de deutéroglycérol et d'acides gras marqués. - Helv. Chim. Acta, 1951, 34, 1641-1654.

(123) - FERNANDES (J.), VAN DEN KAMER (J.H.) et WEIJERS (H.A.) - The absorption of fats studied in a child with chylothorax. - J. Clin. Invest., 1955, 34, 1026-1036.

(124) - FLORSHEIM (W.H.) et MORTON (M.E.) - Stability of phospholipid binding in human serum lipoproteins. - J. Appl. Physiol., 1957, 10, 301.

(125) - FRAZER (A.C.) - The absorption of triglycerids fat from the intestin. - Physiol. Rev., 1946, 26, 102-119.

(126) - FRAZER (A.C.) - Differenciation in the absorption of olive oil and oleic acid in the rat. - J. Physiol., (London), 1943, 103, 306-312.

(127) - FRAZER (A.C.) - Lipolysis and fat absorption. - J. Physiol., 1943, 102, 329.

(128) - FRAZER (A.C.) et SAMMONS (H.G.) - The formation of mono- and diglycerides during the hydrolysis of triglycerides by pancreatic lipase. - Biochem. J., 1945, 39, 122.

(129) - FRAZER (A.C.) et STEWART (H.C.) - Chylomicrograph technique. - J. Physiol. (London), 1939, 95, 21-22 p.

(130) - FRAZER (A.C.) et STEWART (H.C.) - The interpretation of normal chylomicrograph. J. Physiol., 1939, 95, 23-24 p.

(131) - FRAZER (A.C.) et STEWART (H.C.) - Ultra microscopic particles in normal human blood. - J. Physiol., 1937, 90, 18-30.

(132) - FRAZER (A.C.) et STEWART (H.C.) - Ultra microscopic particles in normal serum blood. - J. Physiol., 1936, 87, 53-54 p.

(133) - FRAZER (A.C.) et STEWART (H.C.) - The composition of ultra microscopic in human blood. - J. Physiol., 1937, 90, 31-33 p.

(134) - FRAZER (A.C.) et WALSH (V.G.) - Apparatus for production of finely dispersed emulsions and rate of digestion of fat by lipase in relation to surface area. - J. Physiol., 1933, 78, 467.

(135) - FRAZER (A.C.) - Blood plasma lipo-proteins with special reference to fat transport and metaholism. - Disc. Faraday Soc., 1949, 6, 81.

(136) - FRAZER (A.C.), SCHULMANN (J.H.) et STEWART (H.C.) - Emulsification of fat in the intestin of the rat and its relationship to absorption. - J. Physiol., 1944, 103, 306.

(137) - FREDRICKSON (D.S.) et GORDON (R.S., Jr) - Fatty acid transport. - Phys. Rev., 1958, 38, 585-630.

(138) - FREDRICKSON (D.S.) et GORDON (R.S., Jr) - J. Clin. Invest., 1957, 36, 890.

(139) - FREEMAN (S.) et IVY (A.C.) - Synthesis of neutral fat by intestine of diabetic dogs. - Am. J. Physiol., 1935, 114, 132-136.

(140) - FREEMAN (L.W.) et JOHNSON (V.) - Hemolytic action of chyle. - Am. J. Physiol., 1940, 130, 723-728.

(141) - FROEHLICH (A.L.) - L'épreuve d'hyperlipémie alimentaire dans les diarrhées graisseuses. - Acta gastro-entérol. Belg., 1950, 13, 885-916.

(142) - FROEHLICH (A.L.) - L'épreuve d'hyperlipémie alimentaire normale et pathologique. - Rev. Belge Méd. exp., 1950, 20, 225-275.

(143) - FRÖHLING (W.) - Das Verhalten des Blutcholesterins nach Öl- und Cholesterinbelastung bei gesunden und kranken Menschen. - Arch. Verdauungskr., 1936, 59, 205-219.

(144) - GAGE (S.H.) et FISH (P.A.) - Fat digestion, absorption and assimilation in man and animals as determined by the darkfield microscop and a fat soluble dye. - Am. J. Anat., 1924, 34, 1.

(145) - GARDNER (J.) et LANDER (P.E.) - The cholesterol content of tissue of rats under various dietetic conditions and during inanition. - Biochem. J., 1913, 7, 577.

(146) - GARDNER (F.H.) et SANTIAGO (E.P.) - Oral absorption tolerance test in tropical sprue. - Arch. Int. Med., 1956, 98, 467-474.

(147) - GERBER (N.) - cit. from BARTHEL Chr. : die Methoden zur Untersuchung von Milch u. Molkereiprodukten. 3ème éd., Berlin.

(148) - GNEITING (W.) - Uber intermediären Kohlehydrat, Eiweiss Fettstoffwechsel u. Beziehung zur Leberfunktion. - Klin. Wschenschr., 1931, 12, 1807.

(149) - GOFMAN (J.W.), GLAZIER (F.) et coll. - Lipoproteins, coronary heart disease and atherosclerosis. - Phys. Rev., 1954, 34, 589-607.

(150) - GOFMAN (J.W.), JONES (H.B.), LINDGREN (F.T.), LYON (R.P.), ELLIOT (H.A.) et STRISOWER (B.) - Blood lipids and human atherosclerosis. - Circulation, 1950, 2, 161.

(151) - GOFMAN (J.W.), LINDGREN (F.T.) et ELLIOT (H.A.) - Ultracentrifugal studies of lipoproteins of human serum. - J. Biol. Chem., 1949, 179, 973.

(152) - GOFMAN (J.W.), LINDGREN (F.T.), ELLIOT (H.A.), MANTZ (W.), HEWITT (J.) STRISOWER (B.), HERRING (V.) et LYON (R.P.) - The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. - Science, 1950, 111, 156-171.

(153) - GORDON (R.S.,Jr) - Unesterified fatty acid in human blood plasma. II the transport function of unesterified fatty acid. - J. Clin. Invest., 1957, 36, 810-815.

(154) - GOULD (R.G.) - Lipid metabolism and atherosclerosis. - Am. J. Med., 1951, 11, 209.

(155) - GREENWALD (I.) - The determination of lipoid and acid soluble phosphorus in small amounts of serum. - J. Biol. Chem., 1915, 21, 29.

(156) - GROSSMAN (M.I.), MOELLER (H.C.) et PALM (L.) - Effect of lipemia and heparin on free fatty acid concentration of serum in humans. - Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 1955, 90, 106-109.

(157) - GROULADE (J.) et JACQUELINE (F.) - Test de BURSTEIN et lipoprotéinogramme. Etudes dans la goutte, les rhumatismes chroniques inflammatoires. Ann. de Biol. Clin., 1959, 17, 377-383.

(158) - GRÜNER (A.) et HILDEN (T.) - Occurrence of chylomicrons in blood in young and old individuals. - Scand. J. Clin. & Lab. Invest., 1953, 5, 236-240.

(159) - GURD (F.R.N.), ONCLEY (J.L.), EDSALL (J.T.) et COHN (E.J.) - The lipoproteins of human plasma. - Disc. Faraday Soc., 1949, 6, 70.

(160) - HANNERL (H.) et PICHLER (O.) - Verhalten der Serumlipide unter alimentärer Fettbelastung. - Wiener Kl. Wochenschr., 1959, Heft 20, Jg. 71, 351-354.

(161) - HARRIS (R.S.), CHAMBERLAIN (J.W.) et BENEDICT (J.H.) - Digestion of neutral fats by human subjects. - J. Clin. Invest., 1954, 34, 731-736.

(162) - HAVEL (R.J.) - J. Clin. Invest., 1957, 36, 855.

(163) - HAVEL (R.J.), EDER (H.A.) et BRAGDON (J.H.) - J. Clin. Invest., 1955, 34,1345.

(164) - HAVEL (R.J.) et FREDRICKSON (D.S.) - The metabolism of chylomicra. I. The removal of palmitic acid $C^{14}$ labeled chylomicra from dog plasma. - J. Clin. Invest., 1956, 35, 1025-1032.

(165) - HEINLEIN (H.) - Die Rolle der Leber im Cholesterin und Phosphatidstoffwechsel. Klin. Wchenschr., 1933, 12, 1513-1517.

(166) - HERZSTEIN (J.), WANG CHUN (I.) et ADLERSBERG (D.) - Fat - loading studies in relation to age. - Arch. Int. Med., 1953, 92, 265-272.

(167) - HETENYI (G.) - Der Mechanismus der alimentären Hyperlipämie. - Z. f. d. ges. Exper. Med., 1939, 106, 42-49.

(167 bis) - HEWSON (W.) - An experimental inquiry into the properties of the blood. - London, T. Cadell, 1771, 204 p.

(168) - HILLER (A.), LINDER (G.C.), LUNDSGAARD (C.) et VAN SLYKE (D.D.) - Fat metabolism in nephritis. - J. Exp. Med., 1924, 39, 931-955.

(169) - HILLYARD (L.A.), ENTENMAN (C.), FEINBERG (H.) et CHAIKOFF (I.L.) - Lipide and protein composition of four fractions accounting for total serum lipoproteins. - J. Biol. Chem., 1955, 214, 79-90.

(170) - HIRSCH (A.) - Uber alimentäre Lipämie. - Kl. Wchenschr., 1930, 9, 2062.

(171) - HIRSCH (A.), KAUFFMANN (H.) et KNAUER (H.) - Uber den Einfluss von Kohlehydrat und Fettzufuhr auf Glykämie u. Lipoidstoffwechsel. - Med. Klin. n° 17, 1933, 29, 562.

(172) - HOLMGREN (H.) - Studien über die 24. stundischen Variationen des Darm, Lungen und Leberfett. - Acta Med. Scand., Suppl. 74, 1936.

(173) - HOLWERDA (K.) - Uber die Wirkung von Natriumglykocholat bei der Verseifung von Glyceriden durch Pancreasextrakt. - Biochem. Z., 1938, 296, 1-12.

(174) - HUGHES (R.H.) et WIMMER (E.J.) - Absorption of soluble, volatile fatty acids. J. Biol. Chem., 1935, 108, 141-144.

(175) - JENCKS (W.P.) et DURRUM (E.L.) - Paper electrophoresis as quantitative method: staining of serum lipoproteins. - J. Clin. Invest., 1955, 34, 1437-1448.

(176) - JENCKS (W.P.), HYATT (M.R.), JETTON (M.R.), NOTTINGLY (T.W.) et DURRUM (E.L.) Study of serum lipoproteins in normal and atherosclerotic patients by paper electrophoretic techniques. - J. Clin. Invest., 1956, 35, 980-990.

(177) - JOANNOWICS (G.) et PICK (E.) - Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Leber bei der Fettresorbption unter normalen und pathologischen Verhältnissen. - Wien. Kl. Wchnschr., 1910, 23, 573-577.

(178) - JOBST (H.) et SCHETTLER (G.) - In third International Conference on biochimical problems of lipids. - Edited by R. Ruyssen; Brussels, p. 136.

(179) - JOHNSTON (J.M.) - The absorption of fatty acids by the isolated intestine. - J. Biol. Chem., 1959, 234, 1065.

(180) - KABELITZ (G.) - Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten der alimentären Lipämie, des Cholesterin- und Blutzuckerspiegels nach Belastung mit einem syntetischen und zwei natürlichen Speisefetten. - Arch. f. d. ges. Physiol., 1944, 247, 593-599.

(181) - KAHL (M.F.E.) - A. balance sheet of fat absorption I The storage of elaidic acid by the rat over a one day period. - J. Biol. Chem., 1938, 126, 709.

(182) - KELSEY (F.E.) et LONGENECKER (H.E.) - Distribution and characterization of beef plasma fatty acids. - J. Biol. Chem., 1941, 139, 727-740.

(183) - KIM (K.S.) et IVY (A.C.) - Factors influencing cholesterol absorption. - Amer. J. Physiol., 1952, 171, 302-318.

(184) - KIRK (E.), PAGE (I.H.) et VAN SLYKE (D.D.) - Gasometric microdetermination of lipids in plasma, blood cells and tissues. - J. Biol. Chem., 1934, 106, 203-234.

(185) - KLOTZ (I.M.) - The effects of salts and proteins on the spectra of some dyes and indicators. - Chem. Rev., 1947, 41, 372.

(186) - KORN (E.D.) - The assay of lipoprotein lipase in vivo and in vitro. - Methods of Biochimical Analysis vol. II .

(187) - KORN (E.D.) - Clearing factor, a heparin activated lipoprotein lipase. I Isolation and characterization of the enzyme from normal rat heart. - J. of Biol. Chem., 1955, 215, 1-14.

(188) - KUHRT (N.H.), WELCH (E.A.), BLUM (W.P.), PERRY (E.S.), WEBER (W.H.) et NASSET (E.S.) - The isolation of monoglycerides from lard, from bread. - J. Am. Oil Chem. Soc., 1952, 29, 261.

(189) - KUMAGAWA (M.) et SUTO (K.) - Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes und der unverseifbaren Substanzen in tierischem Material nebst der Kritik einiger gebräuchlichen Methoden. - Biochem. Ztschr. 1908, 8, 212-347.

(190) - KUNKEL (H.G.), AHRENS (E.H.) et EISENMENGER (W.J.) - Application of turbidimetric methods to the study of patients with liver disease. - Gastroenterology II ., 1948, 4, 499-507.

(191) - KUNKEL (H.G.) et BEARN (A.G.) - Phospholipid studies of different serum lipoproteins employing P 32. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1954, 86, 887.

(192) - KUNKEL (H.G.) et SLATER (R.J.) - Lipoprotein patterns of serum obtained by zone electrophoresis. - J. Clin. Invest., 1952, 31, 677-684.

(193) - KUNKEL (H.G.) et TRAUTMAN (R.) - Lipoproteins of human serum. Correlation of ultracentrifugal and electrophoretic properties. - J. Clin. Invest., 1956, 35, 641-648.

(194) - LAGRUE (G.), HARTMANN (L.) et MILLIEZ (P.) - Biochimie des syndromes néphrotiques. - Presse Médicale, 1960, 68, 33-35.

(195) - LANGAN (T.A.), DURRUM (E.L.) et JENCKS (W.P.) - Paper electrophoresis as quantitative method measurement of alpha and beta lipoprotein cholesterol. - J. Clin. Invest., 1955, 34, 1427-1436.

(196) - LAURELL (C.B.) - Composition of chylomicrons isolated from rat's lymph. - Acta Phys. Scand., 1954, 30, 289-294.

(197) - LAURELL (C.B.) - Preliminary data on the composition and certain properties of human chylomicrons. - Scand. J. Clin. & Lab. Invest., 1954, 6, 22-24.

(198) - LAURELL (S.) - Electrophoretic mobility of serum and lymph chylomicrons. - Scand. J. Clin. & Lab. Invest., 1959, 11, 97-100.

(199) - LE BRETON (E.) et PANTALEON (J.) - Mise en évidence d'une cholestérolestérase et d'une lécithase dans le suc pancréatique. Leur rôle. - Arch. Sc. Physiol., 1948, 2, 81.

(200) - LEIPERT (Th.) - Neuere Ergebnisse der Atheroskleroseforschung. - Acta Neurovegetativa, 1955, 10, 429-443.

(201) - LEITES (S.) - Studien über Fett- und Lipoidstoffwechsel. Uber alimentäre Lecithinämie. - Biochem. Ztschr., 1927, 184, 310-317.

(202) - LEITES (S.), JUSSIN (W.) et WODINSKY (M.) - Alimentäre Stoffwechselreaktionen nach Fett-, Glukose und Fleischbelastung. - Z. f. d. ges. exp. Med., 1933, 90, 378-395.

(203) - LELONG (M.), COLIN (J.), NEZELOF (C.H.) et POLONOWSKI (Cl.) - Iodurie provoquée par ingestion d'huile et de savons iodés chez le nourrisson et les enfants. - Ann. Biol. Clin., 1952, 10, 278-283.

(204) - LEMAIRE (A.), COTTET (J.) et LEDERMANN (S.) - Le syndrome biochimique de l'athérosclérose humaine. - La Presse Médicale, 1956, 64, 1129-1132.

(205) - LEMAIRE (A.), ENSELME (J.), COTTET (J.), TIGAUD (J.) et CASASSUS (P.) - Les lipoprotéines du sérum, leur étude par électrophorèse sur papier. Ann. de Méd., 1956, 57, 1-2, 1-39

(206) - LEMELAND (P.) - Recherches chimiques et physiologiques sur le dosage des lipoïdes. II Etude critique de la méthode de Kumagawa et Suto. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1922, 4, 300.

(207) - LEMIERRE (A.), BRULE (M.), WEILL (A.) et LAUDAT (Ph.) - Les troubles de l'absorption intestinale des graisses dans les rétentions biliaires et les affections pancréatiques. Modes de recherche et valeur diagnostique. - Presse Médicale, 1919, 27, 425-427.

(208) - LEPPIEN (R.) - Uber den Blutfettspiegel und den zeitlichen Verlauf seiner Veränderung unter dem Einfluss eines Ölfrühstücks bei gesunden und kranken Menschen. - Ztschr. f. d. ges. exp. Med., 1932, 81, 728-738.

(209) - LEVA (J.) - Uber alimentäre Lipämie. - Berliner Kl. Wschenschr., 1909, 46, 961-965.

(210) - LEVER (W.F.), GURD (F.R.N.) et coll. - Chemical, clinical and immunological studies on products of human plasma fractionation. - J. Clin. Invest., 1951, 30, 99-111.

(211) - LEVER (W.F.), SMITH (P.A.J.) et HURLEY (N.A.) - Idiopathic hyperlipemia and primary hypercholesterolemia xanthomatosis. - J. Invest. Dermat., 1954, 22, 33.

(212) - LEVITES (S.) - Uber die Verdauung des Fettes bei tierischen Organismus. - Z. Physiol. Chem., 1906, 49, 273.

(213) - LEWIN (J.), GHATA (J.) et AZERAD (E.) - Les protéines rapides du sérum normal. Presse Médicale, 1956, 64, 1433-1435.

(214) - LEWIS (L.) et PAGE (I.) - Studies on lipoproteins in dog serum. - Fed. Proc., 1949, 8, 96.

(215) - LINDGREN (F.T.), ELLIOT (H.A.) et GOFMAN (J.W.) - J. Phys. & Colloid. Chem., 1951, 55, 80.

(216) - MACHEBOEUF (M.) - Recherches sur les phosphoaminolipides et les stérides du sérum et du plasma sanguin. I Entraînement des phospholipides, des stérols et des stérides par les diverses fractions au cours du fractionnement des protéides du sérum. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1929, 11, 268.

(217) - MACHEBOEUF (M.) et TAYEAU (F.) - Nouvelles recherches sur la nature et la stabilité des liaisons unissant les lipides aux protéides dans le sérum sanguin. Libération des lipides de certains cénapses lipido-protéidiques par divers savons. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1941, 23, 31.

(218) - MACHEBOEUF (M.) et TAYEAU (F.) - Action des savons et de l'éther sur les cénapses lipido-protéidiques contenus dans les diverses fractions protéidiques du sérum sanguin. - Bull. Soc. Chim. Biol., 1941, 23, 49.

(219) - MAC LACHLAN (P.) - Fat metabolism in the lung. - J. Biol. Chem., 1942, 146, 415.

(220) - Mc CLURE (C.W.) et HUNTSINGER (M.E.) - Studies in fat metabolism. Character of blood lipids in hepatic desorders, including migraine. - Arch. Int. Med., 1929, 43, 715-730.

(221) - Mc CLURE (C.W.) et HUNTSINGER (M.E.) - Studies in fat metabolism. Character of blood lipids in hepatic disorders. The influence on blood lipids of single foodstuffs. - J. Biol. Chem., 1928, 76, 1-18.

(222) - MAJOOR (C.L.H.) - Comparison of solubility curves with results of electrophoretic experiments. - J. Biol. Chem., 1947, 169, 583-594.

(223) - MALINOW (M.R.) - Lipoproteinas y ateroesclerosis. - Rev. Arg. Cardiol., 1954, 21, 219-228.

(224) - MAN (E.-B.) et GILDEA (E.F.) - The effect of the ingestion of a large amount of fat and a balanced meal on the blood lipids of normal man. - J. Biol. Chem., 1932, 99, 61.

(225) - MANCKE (R.) - Gelatinebelastung als Klinische Leberfunktionsprüfung. - Münchener Med. Wchschr., 1931, 78, 1430-1432.

(226) - MANCKE (R.) - Beiträge zur funktioneller Leberdiagnostik. - Arch. Verdauungskr., 1933, 54, 258.

(227) - MATTSON (F.-H.) et BECK (L.W.) - The specificity of pancreatic lipase for the primary hydroxyl groups of glycerides. - J. Biol. Chem., 1956, 219, 735-740.

(228) - MATTSON (F.-H.), BENEDICT (J.-H.), MARTIN (J.B.) et BECK (L.W.) - Intermediates formed during digestion of triglycerides. - J. Nutrition, 1952, 48, 335-344.

(229) - MAURIAC (P.), SERVANTIE (L.) et BARON (A.) - Importance du test de l'hyperlipémie provoquée. - Presse Médicale, 1941, n° 16-17.

(230) - MELLANBY (J.) - Bile salts and secretions as cholagogues. - J. Physiol.(London), 1927, 64, 331-340.

(230 bis) - MENDEL (L.) - Frying of fat and its relations to digestion lipemia. - Monatschr. f. Kinderh., 1925, 30, 308-312.

(231) - METAIS (P.) et SACREZ (A.) - Biochimie normale et pathologique. Déductions thérapeutiques. - Strasbourg-Médical, 1961, 7, 583-597.

(232) - METAIS (P.) - Application de la microélectrophorèse sur papier à l'étude des substances transportées par les protéines sériques. - Biologie Médicale, 1956, Vol. XLV (N° 6).

(233) - MOELLER (H.C.) and others - Study of two intravenous fat emulsions in human subjects. - J. Lab. Clin. Med., 1955, 46, 450-460.

(234) - MORETON (J.R.) - Physical state of lipids and foreign substances producing atherosclerosis. - Science, 1948, 107, 371.

(235) - MORETON (J.R.) - Chylomicronemia, fat tolerance and atherosclerosis. - J. Lab. Clin. Med., 1950, 35, 373-384.

(236) - MUELLER (J.H.) - The assimilation of cholesterol and its esters. - J. Biol. Chem., 1915, 22, 1-9.

(237) - MUELLER (J.H.) - The mechanism of cholesterol absorption. - J. Biol. Chem., 1916, 27, 463.

(238) - MUNK (J.) - Zur Lehre von der Resorption, Bildung und Ablagerung der Fette in Tierkörper. - Arch. Path. Anat. Physiol., 1884, 95, 407.

(239) - MUNK (J.) et ROSENSTEIN (A.) - Untersuchung über die alimentäre Beeinflüssung der Zusammensetzung des menchlichen Chyles. - Virchow's Archiv., 1891, Bd 19, 123, 230, 484.

(240) - NACHLAS (A.), DUFF (G.-L.), TIDWELL (H.-C.) et HOLT (L.E., Jr) - Liver function as tested by the lipemic curve after intravenous fat administration. - J. Clin. Invest., 1936, 15, 143-151.

(241) - NAHVI (N.G.) et PATHVARDAN (V.N.) - The absorption of fat from the human intestine. - Indian J. Med. Res., 1946, 34, 49.

(242) - NEDSWEDSKI (S.N.) - Fermentatives Estersynthese des Cholesterins. - Z. Phys. Chem., 1935, 236, 169.

(243) - NEISSER (E.) et BRAEUNING (H.) - Uber Verdauungslipämie. - Ztschr. f. exp. Path., 1907, 4, 747.

(244) - NEISSER (E.) et BRAEUNING (H.) - Weitere Untersuchungen über Verdauungslipämie. - Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffwechsel, n° 1, 1909.

(245) - NEUMANN (A.) - Uber die Beobachtung des resorbierten Fettes im Blute mittels des Ultracondensors. - Zentralbl. f. Physiol., 1907, 21, 102-104.

(246) - NOMURA (T.) - Experimentelle Studien über intravenösen Fettinfusion. - Toko-ku. J. Exp. Med., 1929, 12, 247-253.

(247) - OKEY (R.) et STEWART (D.) - Diet and blood cholesterol in normal women. - J. Biol. Chem., 1933, 99, 717-727.

(248) - ONCLEY (J.L.) - Lipoproteins of human plasma. - Harvey Lectures p. 91, 1954-1955.

(249) - ONCLEY (J.L.) - In the lipoproteins. Methods and clinical significance, edited by F. Hamburger et P.Bernfeld, Basel, S. Karger, p. 14.

(250) - ONCLEY (J.L.), GURD (F.R.N.) et MELIN (M.) - Preparation and properties of serum and plasma proteins. XXV Composition and properties of human serum beta lipoproteins. - J. Am. Chem. Soc., 1950, 72, 458.

(251) - ONCLEY (J.L.), SCATCHARD (G.) et BROWN (A.) - Physical, chemical characteristics of certain proteins of normal human plasma. - J. Phys. Colloid. Chem., 1947, 51, 184.

(252) - ONCLEY (J.L.) et MANNICK (V.G.) - C.R. Ve Congrès International de transfusion sanguine, Paris, 1954.

(253) - OSMON (K.L.), ZINN (W.J.), WHARTON (E.K.) - Simplified test of fat absorption. Comparison of serum turbidity, chylomicronemia and total lipid values after fat test meal. - J. Am. Med. Ass., 1957, 167, 633-638.

(254) - PAGE (I.H.), PASTERNACK (L.) et BURT (M.) - Uber den Transport von Fetten und Lipoiden durch Blut nach Öleingabe. - Biochem. Zeitschr., 1930, 223, 445-456.

(255) - PEARSON (S.), STERN (S.) et Mc GAVACK (Th.) - A rapid, accurate method for the determination of total cholesterol in serum. - Analytical chemistry, 1953, 25, 813.

(256) - PERETTI (G.), REALE (L.) et CIOGLIA (L.) - Sulla distribuzione nell' organisme di grassi iniettati direttamente in circolo. - Riv. di pat. sper., 1933, 11, 47-56.

(257) - PESSOA (V.C.), KIM (K.S.) et IVY (A.C.) - Fat absorption in absence of bile and pancreatic juice. - Am. J. Physiol., 1953, 174, 209-218.

(257 bis) - PETERS (J.P.) et VAN SLYKE (D.D.) - Quantitative Clinical Chemistry Interpretations. Vol. I Second Edition, 1041 pages. Williams et Wilkin, Baltimore, 1946.

(258) - PFLÜGER (R.) - Der gegenwärtige Zustand der Lehre von der Verdauung und Resorption der Fette und eine Verurteilung der hiermit verknüpften physiologischen Vivisektionnen am Menschen. - Arch. ges. Physiol., 1900, 82, 303-380.

(259) - PIHL (A.) - On mode of action of fatty acids in cholesterol absorption. Cholesterol studies IV. - Acta Physiol. Scand., 1955, 34,197-205.

(260) - PIHL (A.) - Effect of bile acids on cholesterol absorption, deposition and synthesis in the rat. - Acta Physiol. Scand., 1955, 34, 206-217.

(261) - POMERANZE (J.) - Etiology and treatment of atherosclerosis. - Geriatrics, 1953, 8, 359-369.

(262) - POPJAK (G.), GLASCOCK (R.F.) et FOLLEY (S.J.) - Incorporation of [carboxy-$^{14}$C]acetate into lactose and glycerol by the lactating goat redder. - Biochem. J., 1952, 52, 472-474.

(263) - POLONOVSKI (J.), JARRIER (M.), PETIT (M.) et DUPUY (C.) - Méthode simple d'analyse des lipides des alpha- et des béta-lipoprotéines plasmatiques. - Ann. de Biol. Clin., 1958, 16, 1-2, 69-72.

(264) - PRENDERGAST (J.J.) et TEAGUE (D.M.) - Electron micrograph of plasma lipoprotein molecule (Sf 10-20). - Circulation, 1951, 4, 23-24.

(265) - RAEHLMANN (E.) - Ultramicroscopische Untersuchungen von Blut- und Sekretbestandteilen. - Wiener Med. Wochenschr., 1905, 4, 29-35.

(266) - RAPER (H.S.) - Experiments bearing on the functions of the liver in the metabolism of fats. - J. Biol. Chem., 1913, 14, 117-134.

(267) - RAPER (H.S.) - Fat absorption and some of its problems. - Brit. Med. J., 1949, II, 719-724.

(268) - RAVIN (H.A.) et SELIGMAN (A.M.) - Determinants for specificity of action of pancreatic lipase. - Arch. Biochem., 1953, 42, 337-354.

(269) - RAYNAUD (R.), D'ESHOUGUES (R.J.) et PASQUET (P.) - Recherches sur le métabolisme sanguin des lipides au moyen de l'électrophorèse sur papier. - Sem. Hôp. Paris, 1954, 30, 4061-4065.

(270) - RAYNAUD (R.), D'ESHOUGUES (R.J.), PASQUET (P.) et CRUCK (S.) - La Presse Médicale, 1952, 60, 1216.

(271) - REISER (R.) - Conjugated linoleic acid in rat tissue lipids after ingestion as free acid and as triglyceride. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1950, 74, 666-669.

(272) - REISER (R.) et BRYSON (M.J.) - Route of absorption of free fatty acids and triglycerides from intestine. - J. Biol. Chem., 1951, 189, 87-91.

(273) - REISER (R.), BRYSON (M.J.), CARR (M.J.) et KUIKEN (K.A.) - Intestinal absorption of triglycerides. - J. Biol. Chem., 1952, 194, 131-138.

(274) - REISER (R.) et DIECKERT (J.W.) - Synthesis of mucosa and lymph phospholipids during fat absorption. - Proc. Soc. Exp. Biol. New-York, 1954, 87, 622-626.

(275) - RILLIET (B.) - Epreuve d'hyperlipémie provoquée au cours de certaines affections hépatiques. - Rev. Intern. d'Hépatologie, 1953, 3, 13-33.

(276) - ROBINSON (D.S.) et FRENCH (J.E.) - Role of albumin in interaction of chyle and plasma in rat. - Quart. J. Exper. Physiol., 1953, 38, 233-239.

(277) - ROBLES (E.) - Die Beeinflüssung der Gewebsatmung durch Schilddrüsenfütterung. - Frankfurt. Zeitschr. f. Path., 1931, 41, 193-197.

(278) - ROCHE (J.) et DERRIEN (Y.) - Les protéines du plasma et du sérum sanguin. Récentes acquisitions et position actuelle du problème de leur étude. - Exp. Ann. de Bioch. Méd., 1945.

(279) - RODBELL (M.) - N- terminal amino-acid and lipid composition of lipoproteins from chyle and plasma. - Science, 1958, 127, 701-702.

(280) - RODBELL (M.) et FREDRICKSON (D.S.) - The nature of the proteine associated with dog and human chylomicron. - J. Biol. Chem., 1959, 234,562.

(281) - ROHDENBERG (G.L.), BERNHARDT (A.) et KUHBIEL (O.) - A study of sugar mobilization based upon 228 human cases. - Amer. J. Med. Sc., 1920, 159, 577.

(282) - RONY (H.R.) et CHING (T.T.) - Effect of insulin on alimentary lipemia on normal dogs. - Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 1930, 27, 533-534.

(283) - RONY (H.R.) et CHING (T.T.) - Studies on fat metabolism. The effect of certains hormons on fat transport. - Endocrinology, 1930, 14, 355-363.

(284) - ROSENMAN (R.H.), BYERS (S.O.) et FRIEDMAN (M.) - Role of cholate in dietary induced hypercholesterolemia of rats and rabbits. - Am. J. Physiol., 1953, 175, 307-309.

(285) - RÜCKERT (W.) - Eine einfache volumetrische Mikrobestimmung des Blutfettes. - Kl. Wochenschr., 1931, 10, 1853-1858.

(286) - SALAMIN (L.), GHATA (J.F.), LEWIN (J.) et AZERAD (E.) - Influence de l'absorption de certaines graisses alimentaires sur les lipides et les lipoprotéines du sang. - Revue Européenne de Nutrition et Diététique, Vol. 2, n° 2/3.

(287) - SAVARY (P.) et DESNUELLE (P.) - Sur quelques éléments de spécificité pendant l'hydrolyse enzymatique des triglycérides. - Biochim. Biophys. Acta, 1956, 21, 349-360.

(288) - SAVARY (P.), FLANZY (J.) et DESNUELLE (P.) - Emploi de la lipase pancréatique pour l'étude de la structure des corps gras naturels. - Biochim. Biophys. Acta, 1957, 24, 413-423.

(289) - SCHELBE (Dr.) - Untersuchungen über die Fettresorption des Säuglings. - Münchener Med. Wochenschr., 1908, 10, 492-496.

(290) - SCHETTLER (G.) et JOBST (H.) - Die Bedeutung alimentärer Fettbelastungen für die Diagnose der Arteriosklerose. - Deutsche Med. Wochenschr., 1955, 80, 1077-1081.

(291) - SCHMIDT - NIELSEN (K.) - Investigations on fat absorption in the intestine. - Acta Physiol. Scand., suppl. XXXVII, 1946, 12, 1-83.

(292) - SCHMIDZU (Y.) - Ein Beitrag zur Kumagawa-Sutoschen Fettbestimmungsmethode. - Biochem. Ztschr., 1910, 28, 237.

(293) - SCHNORBUSCH (M.-Th.) - Methodische Untersuchungen und Ergebnisse Vergleichender volumetrischer und gravimetrischer Blutfettbestimmung. II. Vergleichende Untersuchungen bei alimentärer Hyperlipämie. - Ztschr. ges. exp. Med., 1934, 94, 63-75.

(294) - SCHONHEIMER (R.) et HRDINA (L.) - Uber Exkretion und Rückresorption im Dünndarm. Mit besonderer Berücksichtigung der Sterine. - Z. Phys. Chem., 1932, 212, 161-172.

(295) - SCHONHEIMER (R.) et HUMMEL (R.) - Beiträge zur Frage der Esterresorption. - Ztschr. Phys. Chem., 1930, 192, 114.

(296) - SCHRADE (W.) - Symposian Arteriosklerose u. Ernährung. - Bad Neuenahr, 1958.

(297) - SCHRADE (W.), BIEGLER (R.) et BÖHLE (E.) - Die Veränderungen der essentiellen Fettsäuren des Blutes bei verschiedenen Krankheiten, ihre Bewertung und ihre Bedeutung für die Ernährung. - Schweiz. Med. Wchenschr., 1959, 89, 117-124.

(298) - SCHRADE (W.) - Uber die Resorptionwege der Fette und Lipoide und über Lungenbeteiligung am Fett und Lipoidstoffwechsel. - Biochem. Ztschr., 1939, 301, 267-282.

(299) - SENIOR (J.R.) et ISSELBACHER (K.J.) - Activation of long chain fatty acids by rat gut mucosa. - Biochem. Biophys. Acta, 1960, 44, 399-400.

(300) - SHAPIRO (A.), KOSTER (H.), RITTENBERG (D.) et SCHONHEIMER (R.) - The origin of fecal fat in the absence of bile studied with deuterium as indicator. - Am. J. Physiol., 1936, 117, 525-528.

(301) - SHODA (M.) - Hydrogen ion concentration during fat cleavage by lipase of pancreas and bile acids. Relation between composition of bile acids and fat splitting action. - J. Biochem., 1926, 6, 395-407.

(302) - SHODA (M.) - Uber die Uradesoxycholsäure aus Bärengallen und ihre physiologische Wirkung. - J. Biochem., 1927, 7, 505-517.

(303) - SHORE (B.), NICHOLS (A.V.) et FREEMAN (N.K.) - Evidence for lipolytic action by human plasma obtained after intravenous administration of heparin. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1953, 83, 216-220.

(304) - SINCLAIR (R.G.) - Role of phospholipids of intestinal mucosa in fat absorption, with additional data on phospholipids of liver and smooth and skeletal muscles. - J. Biol. Chem., 1929, 82, 117-136.

(305) - SINCLAIR (R.G.) - Metabolism of phospholipids. Influence of diet on amount and composition of phospholipid fatty acids in various tissues of rat. - J. Biol. Chem., 1930, 86, 579-586.

(306) - SINCLAIR (R.G.) et SMITH (C.) - Turnover of phospholipids in intestinal mucosa. - J. Biol. Chem., 1937, 121, 361-372.

(307) - SINGER (H.), SPORN (J.) et NECHELES (H.) - Fatty acids absorption and chylomicrons. - Science, 1953, 118, 723-724.

(308) - SIPERSTEIN (M.D.), CHAIKOFF (I.L.) et REINHARDT (W.O.) - Obligatory function of bile in intestinal absorption of cholesterol. - J. Biol. Chem., 1952, 198, 111-114.

(309) - SOMOGYI (M.) - Determination of blood sugar. - J. Biol. Chem., 1945, 160, 69-73.

(310) - SPITZER (J.J.) et MILLER (H.I.) - Unesterified fatty acids and lipid transport in dogs. - Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 1956, 92, 124-126.

(311) - STRAUSS (H.) - Prüfung der Fettresorption durch Erzeugung von alimentärer Lipämie. - Kl. Wochenschr., 1929, 8, 2047.

(312) - STREET (H.R.) - A gravimetric technique for the determination of small amounts of plasma lipids. - J. Biol. Chem., 1936, 116, 25.

(313) - SULLIVAN (M.) et CAMERON (P.) - The effect of adrenalin on the alimentary lipemia of diabetics. - Am. J. of Med. Sc., 1934, 187, 457-462.

(314) - SÜLLMAN (H.) et WILBRANDT (W.) - Phosphatidbildung im Darm bei der Fettresorption. - Biochem. Zeitschr., 1934, 270, 52.

(315) - SWAHN (B.) - A micromethod for the determination of total lipids in serum. - Scand. J. of Clin. and Lab. Invest., Vol. 5, suppl. 9, 1953.

(316) - SWELL (L.), BYRON (J.E.) et TREADWELL (C.R.) - Cholesterol esterases. IV. Cholesterol esterase of rat intestinal mucosa. - J. Biol. Chem., 1950, 186, 543-548.

(317) - SWELL (L.), FLICK (D.F.), FIELD (H., Jr) et TREADWELL (C.R.) - Role of fat and fatty acid in absorption of dietary cholesterol. - Amer. J. Physiol., 1955, 180, 124-128.

(318) - TAJIMA (K.) - Zur Kenntnis der alimentären Hyperlipämie. - Biochem. Zeitschr. 1935, 276, 343-351.

(319) - TAYEAU (F.) - Destruction des cénapses cholestéroprotéidiques du sérum sanguin par les sels biliaires. - C.R. Soc. Biol., 1943, 137, 239.

(320) - TAYEAU (F.) - A propos du dosage du cholestérol sérique par la méthode aux saponosides. - Ann. de Biol. Clin., 1950, 8, 602.

(321) - TERROINE (E.-F.) et WEILL (J.) - Le rôle du suc pancréatique dans la digestion et l'absorption des graisses. - J. Physiol. et Path. Gén., 1916, 15, 1148.

(322) - THOMASSON (H.J.) et GATTENLOS (J.J.) - Etude comparative de la valeur nutritive de la margarine et du beurre. 1958.

(323) - TIDWELL (H.C.) - Mechanism of fat absorption as evidenced by chylomicrographic studies. - J. Biol. Chem., 1950, 182, 405-414.

(324) - TIDWELL (H.C.) et JOHNSTON (J.M.) - An in vitro study of glyceride absorption. - Arch. Biochem., 1960, 89, 79-82.

(325) - TISELIUS (A.) - A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. - Trans. Faraday Soc., 1937, 33, 524.

(326) - TRAUT (D.L.), HARWEY (E.Jr), FRIEDBERG (S.J.) - Titration of free fatty acids of plasma : a study of current methods and a new modification. - J. Lipid Research, Vol. 1, n° 3.

(327) - TURNER (K.B.) et STEINER (A.) - Long term study of variation of serum cholesterol in man. - J. Clin. Invest., 1939, 18, 45-49.

(328) - UNSHELM (E.) - Blutcholesterinkurven nach Belastung mit Fetten. - Acta Paediatrica XI, p. 533.

(329) - VAN BOGAERT (L.), SCHERER (H.J.), EPSTEIN (E.) et FROEHLICH (A.) - Une deuxième observation de cholestérinose tendineuse avec symptômes cérébraux. - Ann. de Méd., 1937, t. 42, 69-101.

(330) - VAN SLYKE (D.D.), PAGE (I.H.) et KIRK (E.) - A manometric micromethod for determination of carbon in organic compounds. - J. Biol. Chem., 1933, 102, 635.

(331) - VAN SLYKE (D.D.) et FOLCH (J.) - Manometric carbon determination. - J. Biol. Chem., 1940, 136, 509.

(332) - VERZAR (F.) - Die Aktivität der Darmschleimhaut bei der Resorption. - Schweiz. Med. Wchschr., 1935, 25, 569-576.

(333) - VERZAR (F.) et MAC DOUGALL (E.J.) - Absorption from the intestine. - London 1936, Monographs of Physiology.

(334) - VERZAR (F.) et JECKER (L.) - Histologische Untersuchungen über die Fettresorption bei Extirpation der Nebennier. - Pflügers Arch., 1936, 237, 14.

(335) - VERZAR (F.) et LASZT (L.) - Untersuchung über die Resorption von Fettsäuren.- Biochem. Zeitschr., 1934, 270, 24-34.

(336) - VOGT-MOLLER (P.) et LAWAETZ (B.) - Studies on the serviceability of the hemolipocrit method, on the course of the alimentary lipemia in normal persons and in patients suffering from idiopathic steatorrhea. - Acta Med. Scand., 1937, 92, 105-134.

(337) - WALTER (H.), NEPVEUX (P.) et NEPVEUX (F.) - Contribution à l'étude du métabolisme lipidique. - Presse Médicale, 1958, 66, 851-852.

(338) - WAUGH (J.M.) and others - Total pancreatectomy. A symposium presenting four sucessful cases and a report of metabolic observations. - Proc. Staff. Meet., Mayo Clin., 1946, 21, 25-46.

(339) - WECHSLER (H.F.) - Variations in the total blood lipid in alimentary lipemia. Arch. Int. Med., 1932, 50, 37.

(340) - WEISMANN-NETTER (R.) et HIRSCH-MARIE (H.) - Les perturbations lipoprotéiniques au cours des myélomes. - Presse Médicale, 1958, 66, 1787-1788.

(341) - WENDT (H.) - Uber Störungen der Fettresorbption bei Lebercirrhose u. anderen Erkrankungen. - Klin. Wchschr., 1929, 8, 1566-1568.

(342) - WERYHA (A.) - Thèse de Médecine, Strasbourg n° 47, 1961.

(343) - WHIPPLE (A.O.), BAUMAN (L.) et HAMLIN (M.) - Observations on the pathologic physiology of the insular and external secretory functions of human pancreas.- Am. J. Med. Sc., 1941, 201, 629-636.

(344) - WHITE (S.G.), RALSTON (W.C.) et CARNE (H.O.) - Effects of age and bed rest on plasma fat particles as measured by fat tolerance test. - Gastroenterology, 1951, 18, 355-360.

(345) - WIELAND (H.) et SORGE (H.) - Untersuchungen über die Gallensäuren (II Mitteilung); zur Kenntnis der Choleinsäure. - Zeitschr. Phys. Chem., 1916, 97, 1-27.

(346) - WILLSTÄTTER (R.), WALDSCHMIDT-LEITZ (E.) et MEMMEN (F.) - Bestimmung der pankreatischen Fettspaltung. Hoppe-Seyl. Z. Physiol. Chem., 1923, 125, 93.

(347) - WILSON (W.R.) et HANNER (J.P.) - Changes of total lipid and iodinic number of blood fat in alimentary lipemia. - J. Biol. Chem., 1934, 106, 323.

(348) - WILSON (W.R.) et HANSEN (A.E.) - Study of the serum lipids by a microgravimetric technique. - J. Biol. Chem., 1936, 112, 457.

(349) - WILSON (M.J.), DICKSON (W.H.) et SINGLETON (A.-C.) - Rate of evacuation of various foods from the normal stomach. - Arch. Int. Med., 1929, 44, 787-796.

(350) - WUNDERLY (C.) et WIEME (R.J.) - A propos du dosage des lipoïdes après électrophorèse sur papier. - Arch. Intern. Physiol., 1955, 63, 318-327.

(351) - ZINN (W.J.) et GRIFFITH (G.C.) - A study of serum fat globules in atherosclerotic and non atherosclerotic male subjects. - Am. J. of the Med. Sc., 1950, 220, 597.

Vu, Strasbourg, le 8 Juillet 1966
Le Président du Jury,
P.METAIS.

Vu et approuvé :
Strasbourg, le 12 Juillet 1966.
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,
M.HASSELMANN.

Vu et permis d'imprimer :
Strasbourg, le 15 Juillet 1966.
Le Recteur de l'Académie
Président du Conseil de l'Université,
M.BAYEN.

# TABLE DES MATIERES

Page

INTRODUCTION ..... 5

PREMIERE PARTIE : GENERALITES ET TECHNIQUES ..... 7

Chapitre I : Absorption intestinale des graisses ..... 9

I - Les phases préliminaires et les phénomènes intra-luminaires ..... 9

a) L'évacuation gastrique.

b) Les phénomènes intestinaux .

1) Rôle de la bile.

2) Action des lipases pancréatique et intestinale.

c) Composition du contenu intestinal après un repas gras.

II - La phase cellulaire ..... 12

- Les triglycérides.
- Le cholestérol.
- Les phospholipides.

III - Les voies de transport ..... 13

IV - Les dépôts ..... 14

Chapitre II : L'épreuve d'hyperlipémie provoquée ..... 15

Chapitre III : Les différentes fractions lipidiques - Techniques de dosage ..... 22

I - Les lipides totaux ..... 22

a) Méthode de référence : technique de Delsal.

b) Méthode par oxydation sulfochromique.

c) Méthode colorimétrique.

II - Les chylomicrons ..... 29

- Isolement des chylomicrons.
- Propriété des chylomicrons.
- Méthodes de dosage des chylomicrons.

1) Comptage direct.

2) Mesures optiques.

- Travaux personnels.

Page

III - Les lipoprotéines ..... 37

- Isolement des lipoprotéines.

1) Méthodes anciennes de précipitation.

2) Electrophorèse.

3) L'ultracentrifugation.

4) Techniques récentes de précipitation spécifique.

- Travaux personnels.

IV - Le cholestérol ..... 41

V - Les acides gras libres ..... 42

- Origine des acides gras.

- Détermination des acides gras libres.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE DE L'HYPERLIPEMIE CHEZ LES SUJETS NORMAUX OU PATHOLOGIQUES ..... 45

Chapitre I : Sujets normaux ..... 47

1) Généralités sur les huiles utilisées et la technique d'épreuve ..... 47

a) La technique d'épreuve.

b) Les huiles utilisées.

2) Expression des résultats ..... 50

3) Résultats ..... 51

4) Discussion des résultats ..... 53

a) En fonction du temps.

b) En fonction de la quantité de graisses administrée.

c) En fonction de la qualité de la graisse ingérée.

Chapitre II : Les hyperlipémies anormales ..... 59

1) Les courbes plates ..... 62

2) Courbes d'hyperlipémie variables dans le temps ou dans leur intensité ..... 64

a) L'épreuve d'hyperlipémie dans les maladies de la digestion.

b) L'épreuve d'hyperlipémie provoquée dans les troubles intestinaux.

c) L'épreuve d'hyperlipémie provoquée et le transport des graisses ingérées.

Page

d) L'épreuve d'hyperlipémie et les troubles circulatoires.

e) L'épreuve d'hyperlipémie provoquée et les surcharges métaboliques.

3) Les hyperlipémies essentielles et primitives ..... 69

CONCLUSIONS GENERALES ..... 75

BIBLIOGRAPHIE ..... 77

TABLE DES MATIERES ..... 99